ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE
ANNÉE 1981 N° 71

ETUDES CYTOGENETIQUES SUR LA LEUCOSE BOVINE

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE
DIPLÔME D'ÉTAT

présentée et soutenue publiquement en 1981
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse
par

Gilles, André, Jean SAINT-MARTIN
Né le 4 Juin 1956 à MONT-DE-MARSAN (Landes)

Jury :

Président : M. GUILHEM
Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Assesseurs : MM. DARRE
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

CABANIE
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE
ANNÉE 1981 N° 71

ETUDES CYTOGENETIQUES SUR LA LEUCOSE BOVINE

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE
DIPLÔME D'ÉTAT

présentée et soutenue publiquement en 1981
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse
par

Gilles, André, Jean SAINT-MARTIN
Né le 4 Juin 1956 à MONT-DE-MARSAN (Landes)

Jury :

Président : M. GUILHEM
Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Assesseurs : MM. DARRE
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse
CABANIE
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur ..... M. LAUTIE
Directeurs honoraires ..... M. PONS
M. FLORIO
Professeurs Honoraires ..... M. BRIZARD
M. BERTHELON
M. SAURAT

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. GODFRAIN
Professeur sans chaire ..... Mme BURGAT-SACAZE

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire ..... M. RICO
Professeur sans chaire ..... M. BRAUN
Maître-Assistant ..... M. BENARD

Physique biologique et médicale
Chimie Biologique et médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire ..... M. PAVAUX
Maître-Assistant ..... M. LIGNEREUX
Maître-Assistant ..... M. SAUTET

Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire ..... M. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire ..... M. FARGEAS
Maître-Assistant Agrégé ..... M. TOUTAIN

Physiologie - Pharmacodynamie et Thérapeutique

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire ..... M. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire ..... M. CABANIE
Maître Assistant Agrégé ..... M. MAGNOL

Histologie - Embryologie
Anatomie Pathologique

CHAIRE D'HYGIENE ET D'INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire ..... M. LABIE
Maître-de Conférences ..... M. EECHKOUTTE
Maître-Assistant agrégé ..... Mme BENARD

Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie
des Denrées alimentaires d'Origine Animale

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire ..... M. DORCHIES
Maître de Conférences ..... M. FRANC
Maître-Assistant ..... M. DUCOS DE LAHITTE

Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES EQUIDES ET CARNIVORES

Professeur titulaire ..... M. LESCURE
Maître de Conférences ..... M. GUELFI
Maître-Assistant ..... M. REGNIER

Sémiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire ..... M. TOURNUT
Maître de Conférences ..... M. BEZILLE
Maître-Assistant ..... M. JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie Médicale du Bétail
et des Animaux de Basse-Cour - Clinique
Clinique ambulatoire

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire ..... M. CAZIEUX
Maître-Assistant Agrégé ..... M. GENEVOIS
Maître-Assistant ..... M. AUTEFAGE

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale
Technique Chirurgicale - Pathologie
Chirurgicale - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire ..... M. FERNEY
Professeur sans chaire ..... M. ROYAL
Maître-Assistant Agrégé ..... M. TAINTURIER

Sémiologie et Propédeutique - Pathologie
de la Reproduction - Obstétrique - Clinique

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES - LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire ..... M. CHANTAL
Maître de Conférences ..... M. GANIERE
Maître-Assistant ..... M. PICAVET

Maladies Contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. LAUTIE
Maître-Assistant ..... M. PELLERIN

Microbiologie - Immunologie
Pathologie Générale

CHAIRE DE ZOOTECHNIE ET ECONOMIE RURALE

Professeur titulaire ..... M. QUEINNEC
Professeur sans chaire ..... M. DARRE
Maître-Assistant ..... Mme QUEINNEC

Ethnologie - Génétique appliquée
Hygiène Générale - Zootechnie - Elevage
Economie Générale et des Productions Animales

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire ..... M. FALIU
Professeur sans chaire ..... M. GRIESS

Botanique appliquée et bromatologie
Agronomie - Alimentation

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. Les Professeurs ANGELIER, ARMENGAUD, AUVERGNAT, BLANC, BOURBON, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET, LE BIHAN, MAZENC, RIVES

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables
des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté en
date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924).

A MES PARENTS ,

En reconnaissance de la confiance qu'ils ont toujours su m'accorder et des sacrifices qu'ils ont consentis à l'accomplissement d'une longue scolarité.

Que ce travail soit l'expression de l'affection que je leur porte.

A MON GRAND - PERE ,

Qu'il voie dans ce travail un modeste hommage à sa longue existence.

A PATRICK, A EVELYNE, A LAURE ET A LISE ,

A FRANCOIS ,

A TOUTE MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS LANDAIS ET TOULOUSAINS ,

AUX " BANDAS " ET AUX " PENAS " ,

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543924_0008

A NOTRE PRESIDENT DE THESE ,

Monsieur le Professeur GUILHEM
de l'Université Paul Sabatier de Toulouse ,

Qui nous a fait le grand honneur
d'accepter la Présidence de notre
Jury de thèse.

Hommage respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE ,

Monsieur le Professeur DARRE
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse ,

Qui nous a inspiré le sujet de cette thèse.
Qu'il y trouve l'expression de notre profonde gratitude pour les conseils éclairés qu'il a su nous prodiguer et qui ont permis de guider ce travail vers son épanouissement final.

Monsieur le Professeur CABANIE ,
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse ,

En reconnaissance de l'accueil bienveillant qu'il a su nous réserver en toutes circonstances.

A Madame BERLAND ,

ingénieur agronome détachée de l'Institut National de la Recherche Agronomique au laboratoire de Cytogénétique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse sous la direction de Monsieur le Professeur QUEINNEC,

qui a conduit les expérimentations de notre thèse avec la diligence et la compétence nécessaires à l'élaboration de la trame de notre sujet.

Qu'il nous soit permis de la remercier pour son grand dévouement .

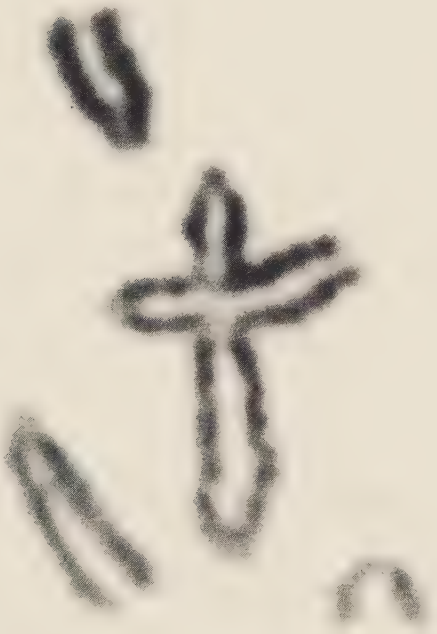
A tous les vétérinaires et aux techniciens landais

qui ont assuré le relais entre le terrain et le laboratoire.

Que, tout particulièrement, le docteur VUILLAUME, directeur du laboratoire de la Direction des Services Vétérinaires des Landes, les docteurs BOTTINELLI, FAGET, LAGOEYTE, LORNE, MARQUESTAUT, PINAQUY, et RASCOL, praticiens, messieurs LAURON et SERRIS, techniciens d'hygiène alimentaire,

trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude pour l'aide indispensable qu'ils nous ont fournie et pour l'accueil chaleureux qu'ils nous ont toujours réservé.

ETUDES CYTOGENETIQUES SUR LA LEUCOSE BOVINE



" Science sans conscience n'est que ruine de l'âme "
RABELAIS (Pantagruel, chapître VIII)

P L A N

-:-:-:-

INTRODUCTION 1

DEFINITIONS ET CLASSIFICATION 5

A - Le caryotype des bovins 5

B - Classification des anomalies chromosomiques 9

1 - Anomalies fonctionnelles ou biochimiques 9

2 - Anomalies de nombre 10

3 - Anomalies de structure 11

C - Anomalies chromosomiques décrites chez les bovins .. 14

CHAPITRE I : ANOMALIES CHROMOSOMIQUES ET CANCERS 17

A - Leucémies et cancers humains 20

1 - La Leucémie Myéloïde Chronique 20

2 - La leucémie Aigüe à Promyélocytes 21

3 - Le Lymphome de BURKITT 22

4 - Les autres cancers 23

B - Leucémies et cancers animaux 24
(outre la leucose bovine)

1 - Tumeurs et leucoses de
l'espèce canine 24

a - Les leucoses canines 24

b - Le Sarcome de STICKER 25

c - Etude d'un neuroblastome 27

2 - Les leucoses félines 28

a - Affection myéloproliférative 28

b - Leucose Lymphoïde 29

3 - Les leucoses aviaires 30

a - La leucémie lymphoblastique
du poulet 31

b - Autres cancers aviaires 32

4 - Le lymphome du brochet 33

5 - Leucémies et sarcomes des Mammifères
de laboratoire 34

a - Action du R.S.V..... 35

b - La leucémie du cobaye 36

c - Les leucémies murines 38

C - La leucose Bovine : revue bibliographique 42

1 - Dans les années 60, Américains et Scandinaves : les précurseurs 43

2 - Dans les années 70, relais des pays socialistes 46

a - Les Polonais 46

b - Les Soviétiques 47

c - Les Roumains 50

CHAPITRE II : EXPERIMENTATIONS 53

A - La leucose Bovine dans le département des Landes 54

B - Matériel et méthode 56

1 - Matériel d'étude 56

2 - Mise en culture 56

3 - Traitement des cellules et étalement sur lame 56

4 - Photographies 57

C - Présentation des animaux étudiés 58

1 - Symptômes de la Leucose Bovine 58

2 - Diagnostic expérimental 59

a - Hématologie 59

b - Sérologie 61

c - Histologie 61

3 - Présentation individuelle détaillée 62

D - Résultats 68

1 - Anomalies numériques 68

2 - Anomalies structurales 69

E - Discussion 83

1 - La méthode 83

a - Culture des lymphocytes 83

b - Identification des chromosomes 85

2 - Les résultats 85

CHAPITRE III : CHROMOSOMES , VIRUS et CANCER 91

A - Chromosomes et cancer 93

1 - Evolution clonale des anomalies 93

2 - Intérêt pratique de la cytogénétique dans l'étude des hémopathies 95

3 - Anomalie chromosomique : cause ou conséquence du cancer 97

B - Virus et Cancer 102

1 - Le Virus de la Leucose Bovine 102

2 - Réplication et transmission du Virus 105

a - Les Désoxyvirus 105

b - Les Ribovirus 105

α- Isolement de la Reverse Transcriptase 105

β- Réplication des Oncornavirus 108

γ- Transmission du Bovine Leukemia Virus 110

3 - Déterminisme génétique du pouvoir cancérigène 112

a - Théorie de HUEBNER 112

b - Notion de Virus Endogène 113

CONCLUSION 117

BIBLIOGRAPHIE I

-:-

I N T R O D U C T I O N

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

L'approche des mécanismes cancéreux par le biais de la cytogénétique n'est pas une idée nouvelle. VON HANSEMANN en 1890 (184) avait déjà découvert des mitoses multipolaires sur des préparations d'épithéliomas humains. Il laissa à BOVERI en 1914 (17) le soin d'énoncer de façon claire la théorie chromosomique du cancer :

" Il existe dans les cellules tumorales un changement chromosomique spécifique responsable des qualités nouvelles présentées par le tissu malin " .

Cette hypothèse fut vivement discutée depuis et l'on retient plutôt aujourd'hui l'idée que les cellules cancéreuses évoluées possédant des anomalies chromosomiques identiques dérivent d'une lignée cellulaire de souche commune (MAKINO 1956) (106).

Le Suédois GUSTAVSSON en 1964 (67), fut le premier à utiliser la cytogénétique sur des bovins atteints de leucose lymphoïde. La monosomie qu'il observa à l'époque s'avéra par la suite n'être qu'une translocation entre les chromosomes 1 et 29 résultant non pas d'un processus malin, mais plutôt du polymorphisme caryotypique intraspécifique.

En fait, à la faveur de l'évolution des techniques modernes, les examens chromosomiques des cellules malignes prirent deux directions en médecine humaine.

En 1960, NOWELL et HUNGERFORD (133) découvraient la présence constante d'un chromosome anormal appelé Philadelphie sur des sujets atteints de leucémie myéloïde chronique (L M C). C'était en fait la première anomalie chromosomique acquise décrite chez l'homme et personne n'en trouva par la suite d'aussi spécifique.

Parallèlement, LEJEUNE, TURPIN et GAUTHIER (96), mettaient en évidence en 1959 la trisomie du chromosome 21 responsable du " mongolisme ". Des statistiques avaient bien démontré depuis plusieurs années déjà la haute fréquence des leucémies chez les " mongoliens " (15 à 20 fois plus de leucémie myéloïde que chez les sujets normaux), mais les chercheurs français donnaient à cette notion un surcroît d'intérêt. De nombreux auteurs (5), (152), confirmaient par la suite l'existence de prédispositions héréditaires aux hématosarcomes chez les sujets atteints de diverses malformations chromosomiques congénitales (syndrome de KLINEFELTER, de TUNER, trisomie 13, anémie de FANCONI,...) mais également chez les sujets à caryotype apparemment normal, introduisant ici la notion de " leucémie familiale ".

Ces faits orientèrent donc nos expérimentations de cytogénétique dans ces deux sens :

1 . Recherche des anomalies chromosomiques acquises par les cellules malignes.

2 . Détection d'aberrations chromosomiques constitutionnelles prédisposant à la leucose.

Ainsi, ces expérimentations et les recherches bibliographiques qu'elles motivèrent, nous permirent d'approfondir la pathogénie de ces anomalies et notre intérêt porta tout naturellement sur l'étiologie virale de la leucose lymphoïde des bovins.

MILLER et COLL (117), les premiers, isolèrent en 1969 dans des cultures de lymphocytes de bovins malades l'agent étiologique baptisé par la suite B.L.V : Bovine Leukaemia Virus. Ils n'étaient pourtant pas les premiers à mettre ainsi en évidence un virus dans des cancers animaux : dès 1908, ELLERMAN et BANG (44), au Danemark, montraient la présence d'un agent infectieux dans le sérum d'oiseaux atteints de leucémie ; en 1911, ROUS (158), prouvait de la même façon qu'un virus pouvait provoquer un sarcome chez le poulet. Depuis cette époque, de nombreux exemples de virus oncogènes (i.e. induisant des tumeurs), ont été mis en évidence chez la souris, la grenouille, le lapin, le cobaye, le hamster, les bovins, le chat, le chien et même chez certains primates (62), (140).

C'est alors que la question se posa de savoir s'il existait une relation de cause à effet entre ces anomalies du caryotype et le processus malin concerné. Un rôle dans l'explication de la génèse de la malignité leur donnerait une importance considérable.

Nous préciserons donc les hypothèses les plus récentes acquises sur la pathogénie virale du cancer ; au préalable, nous aurons présenté les anomalies chromosomiques rencontrées en cancérologie puis nos travaux réalisés sur le caryotype des bovins atteints de leucose lymphoïde.

-:-

D E F I N I T I O N S et C L A S S I F I C A T I O N

-:-:-:

Cela produit en effet des bandes transversales fluorescentes le long des chromosomes mitotiques. Ainsi leur séquence, leur intensité et leur dimension identifient chaque paire de chromosomes. Cette méthode est dénommée " bandes Q " (Quinacrine).

Elle est utilisée pour observer le caryotype des bovins ainsi que les bandes G (GIEMSA) et C (CENTROMERE).

La méthode des bandes G consiste à traiter les chromosomes avec une enzyme protéolytique, la trypsine par exemple, (FINAZ et de GROUCHY en 1971 , (49)), ce qui a pour effet de rendre des bandes transversales sensibles à une coloration au Giemsa et d'autres non.

La méthode des bandes C, en dénaturant l' A D N par l'hydroxyde de barium, permet de colorer préférentiellement l'hétérochromatine constitutive au Giemsa en microscopie normale ou à l'acridine orange en fluorescence (PARDUE et GALL, 1970 (139),).

Nous avons souvent commenté l'intérêt de ces diverses méthodes. Si les bandes Q permettent l'appariemment d'un grand nombre de chromosomes bovins, la technique des bandes G reste quand même la méthode de choix permettant de former et de classer toutes les paires chromosomiques.

Les bandes C permettent de situer l'hétérochromatine constitutive de tous les autosomes de Bos taurus dans la région centromérique. Etant donnée la position invariable du centromère sur les autosomes des bovins, les bandes C ne facilitent pas leur identification. Elles servent donc essentiellement à comprendre le mécanisme de formation de certaines anomalies chromosomiques, telles les fusions centriques. La perte d'un centromère peut également suggérer l'origine relativement ancienne de l'anomalie.
C'est ainsi que l'aspect monocentromérique du chromosome fusionné 1/29, observé par GUSTAVSSON (65) sur plusieurs races bovines serait un argument en faveur d'une origine ancienne et commune de cette fusion centrique parmi les races bovines actuelles (photo 2).

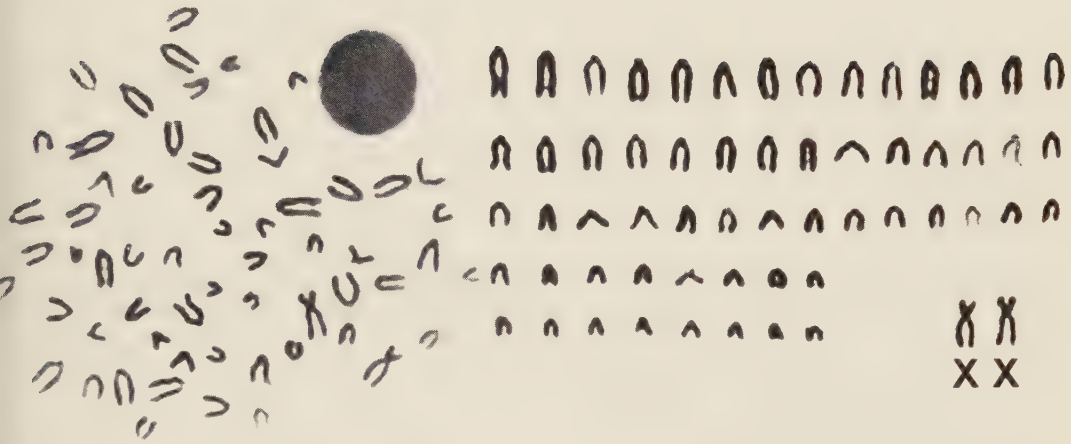


PHOTO 1 : Caryotype normal de Bos taurus L. femelle (60, X X)

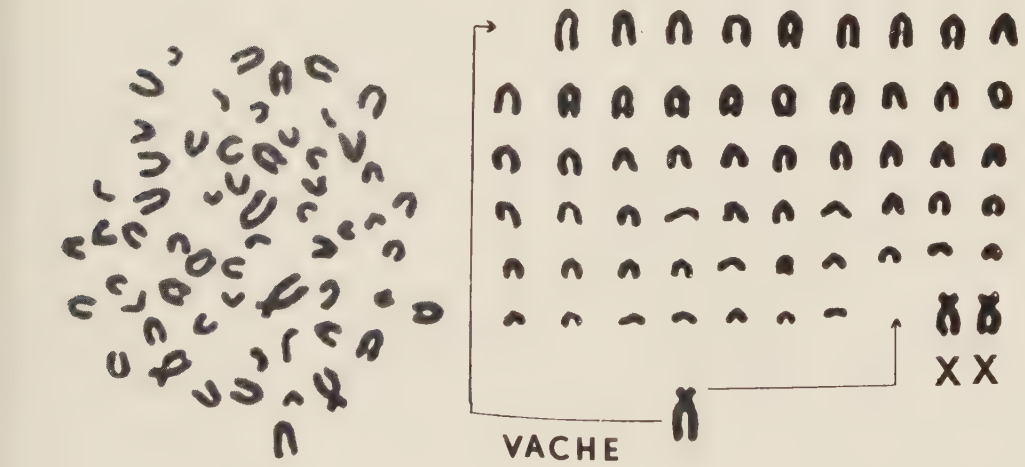


PHOTO 2 : Caryotype d'une vache porteuse d'une translocation (59, X X, t(1/29))

-:-

B - CLASSIFICATION DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

1 - Anomalies fonctionnelles ou biochimiques

Ce sont les mutations moléculaires des gènes résultant d'un accident dans la duplication de l'A D N : un couple basique peut être perdu, ajouté, inversé ou remplacé par un autre. Elles ne rentrent pas dans le cadre de nos recherches car elles nécessitent une approche différente : une lésion moléculaire n'est pas toujours visible au microscope et ne se révèle souvent que par son expression protéique, phénotypique. Prenons par exemple l'anémie falciforme , hémopathie bien connue pour présenter des globules rouges en forme de faucille et décrite bien avant que l'explication en soit donnée : un acide aminé des sous-unités β de l'hémoglobine est remplacé par un acide aminé différent, pour donner naissance à une hémoglobine dénommée S (H b S) ; cette molécule anormale a la propriété de précipiter sans oxygène : ainsi le changement d'un seul acide aminé est capable de déstabiliser la molécule. L'observation des chromosomes ne nous mènera pas à de telles considérations.

2 - Anomalies de Nombre

Toute cellule dont le nombre chromosomique est normal est dite euploïde ; dans le cas contraire la cellule est dite aneuploïde, les variations pouvant provenir soit d'éléments en plus (cellule hyperploïde) soit d'éléments en moins (cellule hypoploïde).

Le mécanisme essentiel qui préside à la formation de ces variations est celui de la non-disjonction résultant de l'absence de clivage entre les deux chromosomes d'une même paire lors de la métaphase : l'un reste attaché à son homologue et le suit.

Ainsi, pour la paire en question, une cellule fille aura un chromosome supplémentaire (trisomie) et l'autre un chromosome manquant (monosomie).

Si ce mécanisme affecte plusieurs paires de chromosomes, nous aurons affaire à une polysomie.

Il peut également être observé des cellules pseudo diploïdes où l'absence de certains chromosomes est contrebalancée par l'excès de certains autres (nous décrirons ainsi des cellules femelles à 2 n = 60 chromosomes alors qu'elles n'affichent qu'un seul chromosome X).

Il s'agit dans tous ces cas-là de variations ne touchant que peu de chromosomes. Elles peuvent toutefois affecter l'ensemble du génome, soit par défaut (n au lieu de 2 n chromosomes) dans des cellules dites monoploïdes , soit par excès (3n, 4n, ... x n) dans des cellules polyploïdes. Ces dernières sont souvent rencontrées dans les tissus néoplasiques, résultant soit d'endomitose, soit d'acquisition successive de chromosomes surnuméraires (de NAVA, 1969, (130),).

3 - Anomalies de structure

Leurs descriptions nécessitent une observation minutieuse de chaque chromosome et souvent son agrandissement photographique.

Des discontinuités peuvent apparaître le long des bras avec modification des affinités tinctoriales basophiles ; elles peuvent avoir lieu sur une seule chromatide ou sur les deux, ce qui se traduit par l'apparition d'une décoloration ressemblant à une coupure. Ces discontinuités portent le nom de Lacunes ou Gaps ; elles ressemblent à des constrictions secondaires.

Les chromosomes peuvent être cassés sur les deux chromatides, de façon symétrique ; on parle de Fracture chromosomique. Si la lésion n'a lieu que sur l'un des deux bras, on parle de Fracture chromatidienne.

Le morceau du chromosome fracturé peut se perdre, on parle alors de délétion (q - s'il s'agit d'un bras long, p - s'il s'agit d'un court).

Le morceau de chromosome isolé peut se recoller à l'envers sur le même élément lors d'inversion ou s'accoller à l'extrémité d'une autre chromatide lors de translocation (t (1 ; 29) par exemple).

Les fragments de chromosome fracturé peuvent former des segments isolés acentriques pour lesquels certains auteurs emploient le terme de chromosome minute.

Un chromosome fracturé ayant perdu ses télomères, peut avoir les bras collés en forme d'anneau ; on parle de chromosome en anneau ou Ring chromosome notée r (12) par exemple ; c'est une image spécifique des anomalies radio - induites.

Deux chromosomes fracturés peuvent avoir les bras collés entre eux pour former un chromosome dicentrique.

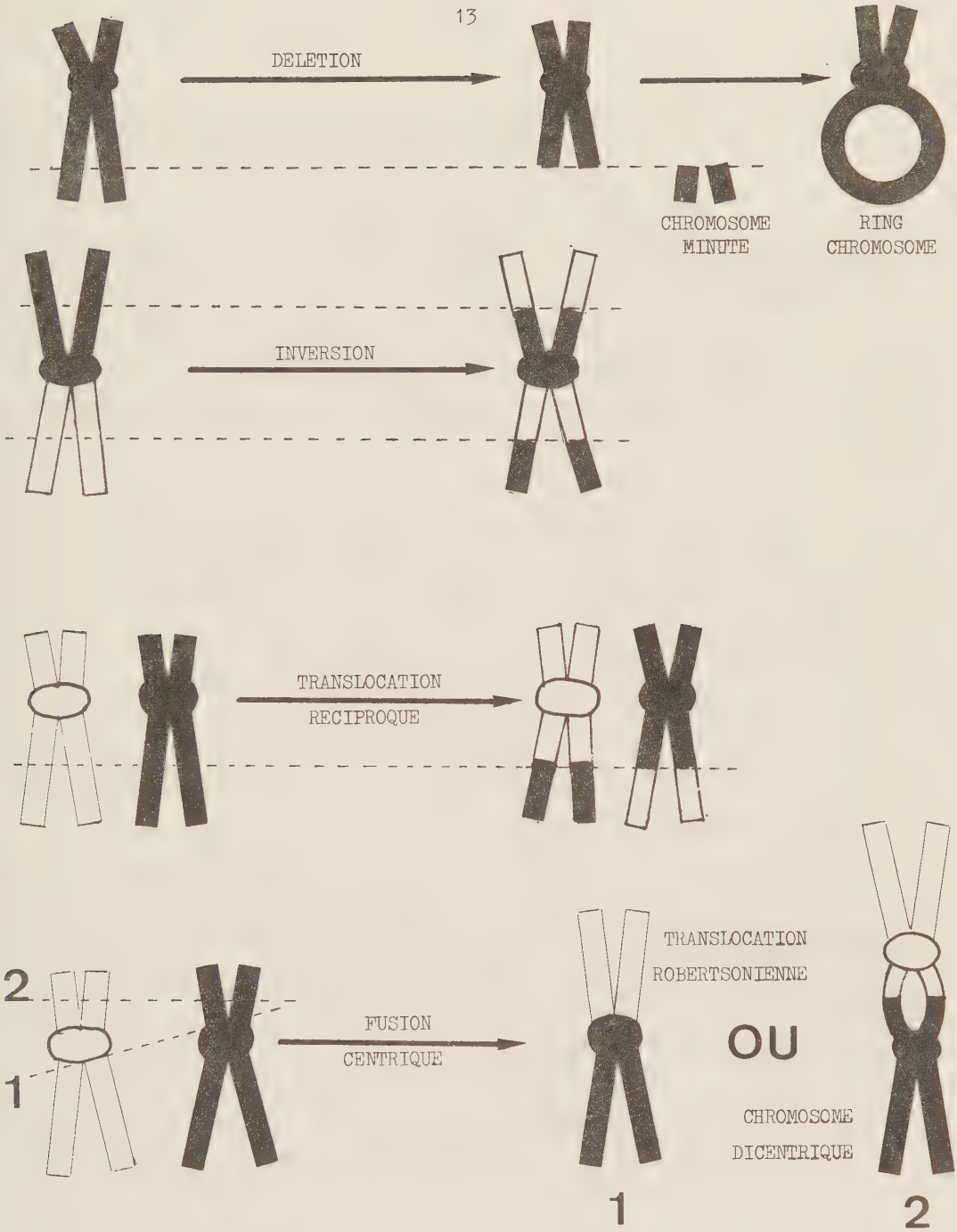
Deux chromosomes entiers peuvent s'accoller au niveau des centromères lors d'un phénomène de Fusion centrique ou de translocation Robertsonienne du nom de celui qui, le premier, la décrivit en 1916 sur des insectes (157).

Il peut également se produire qu'une division transversale du centromère donne naissance à un chromosome possédant deux bras identiques et appelé isochromosome (noté iso X par exemple).

Il arrive enfin que deux noyaux cellulaires en phases de division différentes se rencontrent et fusionnent ; il se produit alors une précipitation de la chromatine donnant aux chromosomes une allure condensée. Certains auteurs dénomment ce phénomène " Premature Condensation of chromosomes " (P C C) ; il est spécifique de l'action des virus oncogènes.

Les principales anomalies sont décrites dans le schéma 1.

-:-



SCHEMA 1 : PRINCIPALES ANOMALIES DE STRUCTURE

(Les pointillés indiquent les traits de fracture)

C - ANOMALIES CHROMOSOMIQUES DECRITES CHEZ LES BOVINS

KNUDSEN en 1961 (89) est le premier à décrire une aberration chez les bovins : les " sticky chromosomes " trouvés dans les cellules germinales qui entraînent une stérilité mâle.

Les chromosomes présentent alors un tel état de viscosité, qu'il provoque un collage gênant la migration anaphasique et l'évolution vers des stades ultérieurs. Il semblerait aujourd'hui que ce phénomène soit l'expression d'un gène dominant.

Après celle-ci, des anomalies de nombre furent découvertes : BASRUR et COLL.en 1964 (7), puis RIECK et COLL.en 1970 (155), décrivent un cas de trisomie du chromosome X, SCOTT et GREGORY en 1965 (167) un mâle Klinefelter (61, XXY) et RIECK et COLL.en 1969 (154) une mosaïque (61, XXY ; 60, XX ; 60, XY).

HERZOG et HOAN en 1968 (76), puis en 1971 (77), MORI et COLL . en 1969 (125), décrivent chez des bovins atteints de brachygnathie une trisomie autosomale portant sur les paires 17 ou 18.

Il a été également mis en évidence plusieurs types d'anomalies de structure : des chromosomes porteurs de constrictions secondaires par HALNAN en 1972 (68), une inversion péricentrique sur un autosome par SHORT et COLL.en 1969 (170), Ainsi que plusieurs translocations faisant intervenir différents chromosomes :

- GUSTAVSSON et ROCKBORN en 1964 (67), sont les premiers à trouver un animal porteur d'une fusion centrique entre le chromosome 1 et le 29.

- POLLOCK en 1972 a mis en évidence une translocation du même type entre les chromosomes 2 et 4 (145).

- BRUERE et CHAPMAN en 1973 (18) en décrivent une sur un taureau Simmental entre les autosomes des paires 11 ou 12 d'une part et 15 ou 16 d'autre part.

- GUSTAVSSON et COLL en 1968 (66) et en 1971 (64), ont décrit une translocation (X ; autosome) chez une femelle.

- HANSEN en 1969 (70) a trouvé un autre type de translocation : la fusion " en tandem " chez un mâle de race Danoise dont la fertilité est réduite à 10 %.

Notre laboratoire a pour sa part mis en évidence en 1974 une translocation robertsonienne notée F qui semblait impliquer un chromosome des paires 7 à 11 et un des paires 20 à 25 (DARRE, BERLAND et QUEINNEC (33),).

Chez les bovins, une anomalie qui ne se range pas dans cette classification est fréquemment rencontrée : le freemartinisme . Il se manifeste chez les femelles issues de naissances gémellaires dizygotes qui deviennent intersexuées et stériles. L'observation cytogénétique permet de mettre en évidence la présence de deux populations cellulaires : (60, XX) et (60, XY). Cette situation est retrouvée chez le jumeau mâle bien que celui-ci reste fertile et phénotypiquement normal. Nous avons retenu un taureau semblable dans nos expérimentations car il s'est révélé contaminé par le Bovine Leukaemia Virus.

-:-

CHAPITRE PREMIER

ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

ET

CANCERS

Nous nous proposons, dans cette première partie de notre étude, de donner un aperçu tant en recherche humaine qu'en médecine vétérinaire des conclusions tirées de la cytogénétique des cancers après bientôt un siècle d'expérimentations.

En médecine humaine, tous les sujets porteurs d'anomalies chromosomiques constitutionnelles ont fait l'objet d'études statistiques approfondies. Elles ont confirmé que les diverses trisomies (21, 8 ...) ou les syndromes de TURNER (45, X) de KLINEFELTER (47, XXY) ... représentaient un terrain fortement prédisposant aux leucémies (5) (152).

Parallèlement, tous les cancers ont fait l'objet d'étude cytogénétique systématique ayant pour but de détecter les anomalies chromosomiques acquises caractéristiques d'un processus néoplasique ; c'est cet aspect que nous développerons dans une première partie.

La cytogénétique vétérinaire, elle, n'a pu suivre une telle démarche, car si l'étude chromosomique des animaux cancéreux peut être effectuée aisément, en revanche la détection des sujets présentant une constitution chromosomique anormale est très difficile. En effet, lorsque de tels animaux survivent, soit l'anomalie chromosomique passe inaperçue car elle a peu de répercussion sur le phénotype, soit l'animal est vite éliminé, qu'il soi considéré comme un monstre ou qu'il soit économiquement inintéressant.

Les vétérinaires ont donc été amenés à opérer à l'inverse des médecins : partant d'un animal atteint de leucémie ou de tumeur, ils cherchent à isoler des lignées cellulaires chromosomiquement caractéristiques. Et, lorsqu'il leur arrive d'en découvrir, il s'efforcent alors seulement d'en préciser l'origine constitutionnelle ou acquise.

Nous verrons donc dans une deuxième partie que cela a donné lieu à quelques travaux intéressants mais la troisième partie nous révèlera que, mises à part les leucémies des animaux de laboratoire, c'est la leucose bovine qui a suscité le plus d'intérêt.

-:-

A - LES LEUCEMIES ET CANCERS HUMAINS

Les investigations sont très approfondies en médecine humaine et il n'est pas de cellule cancéreuse qui ne soit passée sous le microscope d'un cytogénéticien.

Nous avons retenu les trois exemples qui nous ont paru les plus probants.

1 - La leucémie Myéloïde chronique

La découverte en 1960 (133), de l'altération quasi constante d'un chromosome acrocentrique du groupe G dans les cellules de la leucémie myéloïde chronique a soulevé un intérêt considérable. Réduisant de moitié environ la taille de ce petit chromosome, cette lésion a été vite identifiée dans les cellules de leucémies affectant les deux sexes et sa présence reconnue dans la majorité des cas (85 à 90 % des L M C) (57).

Il fallut attendre 10 ans pour que CASPERSSON et COLL. (24), grâce à leur technique de fluorescence à la mourtarde de Quinacrine, établissement que le chromosome de Philadelphie était un membre de la paire 22. Trois ans plus tard, en 1973, ROWLEY (159), réussissait à montrer que le segment manquant du 22 s'attachait à un chromosome 9, à l'extrémité de son long bras.

Il semble aujourd'hui que le chromosome de Philadelphie représente le vrai début de la maladie. L'accident se produit au cours de la vie de l'individu, et cela est démontré par l'existence de jumeaux vrais, monozygotes, dont un seul est leucémique avec un chromosome P h^1 . Il survient

dans une des cellules primordiales qui se différencient ensuite en hématies, en leucocytes et en plaquettes sanguines. Ces trois lignées seront porteuses du chromosome marqueur (45).

2 - La Leucémie aigüe à promyélocytes

ENGEL en 1966 (46), observe sur des sujets atteints de cette affection, une délétion isolée du long bras d'un 17 ou d'un 18.

10 ans plus tard, GCLOMB et ROWLEY (52), arrivent à préciser que le chromosome intéressé appartient à la paire 17 puis en 1977 décrivent cette anomalie comme une translocation (15 ; 17) retrouvée sur tous les malades atteints de leucémie aigüe promyélocytique.

Depuis, les cytogénéticiens du Japon, d'Europe et d'Amérique ont confirmé cette anomalie acquise et spécifique même s'ils ne s'entendent pas sur le point exact de fracture (82), (90), (135), (169), (177), (183).

3 - Le Lymphome de BURKITT

Les MANOLOV décrivent en 1972 (107), une bande supplémentaire à l'extrémité distale d'un chromosome 14, sur les cellules ganglionnaires d'un sujet atteint de lymphome de BURKITT, tant à l'examen direc qu'après culture.

ZECH et COLL.en 1976 (201), puis les MANOLOV et COLL.en 1979 (108), confirment que l'acquisition de cette bande résulte d'une translocation qui l'emprunte à l'extrémité du chromosome 8. Elle est aujourd'hui régulièrement retrouvée aussi bien en Afrique qu'en Europe ou aux U.S.A.

Cette translocation fut soupçonnée d'être spécifique du virus d'Epstein - Barr, responsable de ce lymphome mais elle est aussi observée dans des lignées lymphomateuses négatives pour ce virus (JARVIS et COLL.1974 (81). D'autre part, les souches cellulaires lymphoblastiques obtenues par la culture de lymphocytes en présence du virus ne contiennent pas cette anomalie. De la même façon, l'addition d'une bande sur le chromosome 14 (14 q+) n'est qu'exceptionnellement retrouvée dans les désordres non lymphoprolifératifs : MITELMAN et COLL.en 1979 (119) ont répertorié 856 cas de cancers dont 571 Myéloprolifératifs présentant des anomalies chromosomiques et 125 tumeurs solides . Ils n'ont trouvé sur ces deux dernières catégories de cancer qu'un seul 14 q+ de structure d'ailleurs différente de celle des lymphomes.

Ils en déduisent que " le chromosome marqueur 14 q+ peut être plus ou moins exclusivement associé aux cancers des lymphocytes B ".

4 - Les autres cancers

Sur le modèle du chromosome P h^1, grâce aux techniques de marquage, les cytogénéticiens humains (57), sont en train de démontrer que chaque cancer, s'il ne possède son " chromosome de Philadelphie ", renferme au moins un " variant commun " qui lui est propre.

Ainsi les méningiomes paraissent liés à la perte ou à la délétion partielle du chromosome 2 (MARK, 1973)(110) ; certains rétinoblastomes, tumeurs de la rétine, sont dus à la perte d'un segment très précis du 13, la polycythémie vraie (REEVES, 1975)(153), et l'anémie sidéroblastique idiopathique acquise, (de GROUCHY, 1966)(59), maladies sanguines non malignes mais qui le deviennent très fréquemment, sont caractérisées par la délétion partielle du chromosome 20. La cytogénétique des cancers humains devient de plus en plus précise.

-:-

B - LEUCEMIES ET CANCERS ANIMAUX

(outre la leucose bovine)

Si l'on excepte les animaux de laboratoire, terrain de prédilection pour la recherche fondamentale, les cancers des animaux domestiques ou sauvages ont fait l'objet à ce jour de bien peu de recherche cytogénétique. Le fossé qui nous sépare de la médecine humaine est, dans ce domaine là, bien profond.

Nous rendrons compte cependant des publications intéressantes qui, malgré leur faible nombre, nous permettront quand même d'envisager quelques découvertes originales.

1 - Tumeurs et leucoses de l'espèce canine.

De nombreux auteurs se sont intéressés aux leucoses canines et au sarcome de STICKER ; nous évoquerons également une publication sur un neuroblastome.

a) Les leucoses canines

Diverses anomalies ont été observées dans les leucose du chien mais le fait le plus marquant est la découverte fréquente d'un ou de plusieurs chromosomes métacentriques surnuméraires résultant d'une fusion centrique (HARE et COLL, 1967 (74) ; BASRUR et GILMAN 1965 (6) ; BENJAMIN et NORONHA 1967 (101) ; DARRE, QUEINNEC et BERLAND 1970 (35)). L'absence de tout caryotype normal dans les cellules sanguines du chien observé par ces derniers auteurs, fait douter d'une anomalie acquise spécifique du

processus leucémique à l'image du chromosome P h^1 . Elle évoque plutôt une aberration chromosomique constitutionnelle.

D'ailleurs FROGET et COLL.en 1972 (50), ont observé sur une chienne atteinte de leucose lymphoïde une anomalie similaire, de type fusion centrique alors que le caryotype d'un autre animal leucosique était normal. De même MILES et COLL.en 1970 (115), étudiant directement le tissu lymphoïde tumoral, ont trouvé sur 11 cas de lymphosarcomatose canine 10 caryotypes normaux.

Il ne semble donc pas exister de " chromosome marqueur " dans les leucoses canines ; tout au plus pourrait-on évoquer la prédisposition des animaux à caryotype constitutionnellement anormal à contracter les leucémies.

b) Le sarcome de STICKER

Il s'agit d'une maladie vénérienne spécifique aux carnivores et se caractérisant par la présence de néoformations bourgeonnantes sur les organes génitaux externes et, secondairement, sur les viscères.

Depuis que WATANABE et AZUMA en 1956 au Japon (185), ont décrit la constitution chromosomique aberrante des cellules tumorales, de nombreux auteurs ont confirmé ces données dans le monde entier au Japon (TAKAMAYA et MAKINO 1961)(176), comme en Amérique (WEBER et COLL. 1965 (186), MURRAY et COLL.1969 (126),), et en Afrique(LADO IDOWU 1975 (92),).

Nous savons que le caryotype du chien est fait de 78 chromosomes dont 2 seulement sont métacentriques (X et Y). Tous les cytogénéticiens sont d'accord pour accorder aux cellules de ce réticulosarcome 59 chromosomes dont 17 sont métacentriques. Ce caryotype est même retrouvé sur les localisations extra-génitales de la tumeur (126) ainsi que sur les sarcomes obtenus après inoculation expérimentale (92). La seule variante émane du continent américain, WEBER et COLL.(186) décrivant plutôt 15 métacentriques dont un grand présentant des zones non colorées sur les deux grands bras qui a été considéré comme un chromosome marqueur : il est effectivement retrouvé dans toutes les cellules de leur manipulation.

L'on pourrait penser que cette anomalie résulte de la fusion de chromosomes acrocentriques du chien, conduisant ainsi à la formation d'un nombre réduit d'éléments métacentriques. Le rôle d'un virus a ainsi été la première hypothèse étiologique avancée:il serait intéressant, car vraiment rare, de posséder ainsi un virus capable de reproduire constamment la même anomalie.

Cette idée a été vite abandonnée car dès 1934, STUBBS et FURTH (175), ainsi que de MONBREUN et GOODSPATURE (123), ont démontré que seule la cellule vivante était capable de transmettre le sarcome : ni des cellules desséchées ou refroidies, ni des ultra-filtrats ne possèdent cette propriété. De plus, jamais des particules virales n'ont été mises en évidence.

La persistance de ce caryotype après de longues cultures ou après inoculation a suggéré à TAKAYAMAet à MAKINO en 1961 (176) l'idée d'une lignée cellulaire stable. L'identification, par la suite, des chromosomes sexuels du chien dans ce caryotype à 59 chromosomes a confirmé l'explication avancée en 1969 par MURRAY et COLL.(126), selon laquelle le sarcome de STICKER serait une greffe cellulaire transmise par l'accouplement dérivant de longue date d'un clone " parasitaire " de l'appareil génital du chien.

Cela expliquerait l'évolution légèrement différente entre les continents asiatiques et américains, mais il subsiste encore un doute quant à l'origine de ce clone : peut-être l'action initiale d'un virus ? On voit que ces deux hypothèses peuvent se rejoindre.

c) Etude d'un Neuroblastome

Les Argentins DURAN - TROISE et de LUSTIG ont étudié en 1974 (41), les chromosomes de cellules tumorales prélevées sur un neuroblastome orbitaire puis cultivées in vitro.

Leurs observations s'avèrent très intéressantes car sur 80 métaphases visibles en première culture ou après 48 heures, près de 90 % sont hypoploïdes, 60 % possédant de 44 à 57 chromosomes. Mais le fait le plus marquant est révélé par la présence d'un grand nombre de chromosomes méta ou submétacentriques (entre 5 et 16 alors que les cellules normales du chien n'en renferment que 2).

Ils ne remarquent cependant pas qu'un caryotype bien précis domine ou qu'une lignée cellulaire se dégage, mais il n'observent pas davantage d'anomalie de structure différente.

Ils proposent évidemment d'expliquer la présence de ces chromosomes métacentriques supplémentaires par la fusion centrique des chromosomes télo ou acrocentriques normaux, mais le degré d'hypoploïdie est tel qu'il faut en plus constater une perte réelle de chromosomes au cours du processus néoplasique.

C'est alors que nous avons été amenés à rapprocher cette observation des précédentes réalisées sur les cancers du chien : à chaque fois, le mécanisme de fusion centrique mettant en évidence de nouveaux chromosomes métacentriques est décrit. Comment pourrions-nous ne pas avancer en conclusion que ce facteur joue un rôle important dans les tumeurs canines ?
Il restera néanmoins à préciser quel est exactement ce rôle.

2 - Les leucoses félines

Malgré le grand intérêt porté par les cliniciens aux hémopathies malignes du chat, bien peu de sujets malades ont fait l'objet d'analyse cytogénétique. Nous avons toutefois retenu deux publications.

a) Affection myéloprolifératrice

En 1971, RIPPS et HURVITZ (156) s'intéressent à deux chats présentant des désordres myéloprolifératifs : une analyse hématologique révèle un grand nombre d'érythrocytes primitifs indifférenciés dans le sang, très certainement des érythoblastes.

Ils prélèvent des lymphocytes dans la moelle osseuse et dans le sang de ces animaux et ils comparent leurs caryotypes à ceux de chats indemnes de toute affection.

Ils constatent malheureusement que les proportions d'aneuploïdie et de fractures de ces animaux considérés comme " pré-leucosiques ne sont pas différentes de celles des chats normaux. Ils donnent toutefois à cela trois explications possibles :

- Les cellules primitives observées en grand nombre

peuvent être des érythroblastes normaux dont la prolifération vient de la déficience d'un mécanisme contrôlant la maturation normale.

- Les cellules anormales peuvent aussi ne pas être en mitose ou être éliminées par la préparation malgré l'utilisation d'un agent mitogène la phytohémagglutinine.

- Les cellules enfin peuvent posséder une mutation trop petite pour être détectée par des méthodes courantes de cytogénétique (à l'image de celle de l'hémoglobine S).

Ils restent cependant dans l'impossibilité de conclure ces expérimentations finalement peu enrichissantes.

b) Leucose lymphoïde

Plus substancielle est l'analyse réalisée en 1981 par GOH, SMITH et PROSPER (51). Ils se sont en effet intéressés à deux chattes atteintes de leucose lymphoïde, hémopathie liée à la présence d'un Oncornavirus, le Feline Leukaemia Virus (Fe.L.V.) appartenant à la même famille que celui de la leucose lymphoïde bovine (le B.L.V) (141).

Les lymphocytes sont prélevés dans la moelle osseuse ; leur préparation conventionnelle permet d'obtenir 38 métaphases sur le premier animal et 36 sur l'autre.

Ils notent tout d'abord une forte proportion d'aneuploïdie (respectivement 74 % et 39 % , marquée par 60 % d'hyperploïdie sur le premier et 25 % d'hypoploïdie sur le deuxième, le caryotype d'un chat normal étant constitué de 38 chromosomes.

Il ne semble pas toutefois que ces anomalies de nombre affectent préférentiellement certaines paires. La technique des bandes G leur permet d'ajouter à ces constations :

- que, un chromosome X fait défaut à la moitié des métaphases présentant 37 chromosomes (27 % des mitoses observées).

- que 7 métaphases ont un chromosome A 2q supplémentaire.

- que 7 métaphases sont pseudodiploïdes.

Ils rattachent évidemment toutes ces anomalies à la présence du virus mais, comme nous ne pouvons comparer leurs résultats à aucune autre expérimentation et que les anomalies décrites semblent bien différentes d'un animal à l'autre, les conclusions à tirer de cette unique publication ne pourraient être que médiocres et hypothétiques.

Souhaitons qu'à l'avenir les cliniciens n'hésitent pas à proposer leurs chats cancéreux aux vétérinaires cytogénéticiens.

3 - Les leucoses aviaires

Les oiseaux, et surtout le poulet, étant de manipulation et d'élevage faciles, ont fourni un sujet d'étude important à la cytogénétique. Toutefois, l'absence de spécificité dans les anomalies rencontr sur les sujets cancéreux a rebuté bon nombre de chercheurs. Ils ont préféré utiliser les virus responsables de sarcomes aviaires sur d'autres espèces de laboratoire : nous aborderons bientôt cet aspect du sujet.

a) La leucémie lymphoblastique du poulet

Les travaux de KIM et COLL.en 1972 (87) illustrent parfaitement une application pratique de la cytogénétique en cancérologie.

Effectivement, depuis que les travaux sur le sarcome de STICKER ont mis en évidence un clone de cellules tumorales capables de " parasiter " un hôte, les cancérologues, face à un néoplasme expérimentalement inoculable, sont tentés de s'interroger sur son étiopathogénie : est-ce un clone parasite ou un virus cancérigène ?

Pour répondre à cette question, KIM et COLL.prélèvent des lymphocytes sur des poulets atteints de leucémie lymphoblastique et en déterminent le sexe. Ils inoculent ensuite grâce à du sang total de ces premiers animaux des poulets du sexe opposé et ils étudient les chromosomes de ces animaux lorsqu'ils sont à leur tour malades, ceci même après plusieurs passages en série.

Or, dans le cadre de leur expérimentation, le sexe du donneur n'est jamais retrouvé sur les lymphocytes des oiseaux inoculés. Cela discrédite donc l'hypothèse que la maladie pourrait être causée par transplantation de cellules cancéreuses.

Voilà une démarche expérimentale capable de confirmer s'il en était besoin, l'étiologie virale de la leucémie lymphoblastique des oiseaux.

Quant aux anomalies chromosomiques rencontrées, les mêmes auteurs ont effectué le caryotype de 546 lymphocytes, de poulet leucémique.

Ils ont constaté des anomalies morphologiques aussi bien que numériques : 20 % de cellules aneuploïdes et 5 % de fracture sur des animaux sains témoins contre respectivement 70 % et 55 % sur des lymphocytes de poulet malade. Ils décrivent de simples fractures, des fragmentations , mais aussi des non-accollements, des chromosomes marqueurs.

Il faut toutefois préciser que les analyses cytogénétiques des oiseaux sont difficiles car la présence de nombreux microchromosomes empêche l'identification, la classification et même l'énumération des autosomes. Les préparations actuelles sont incapables d'étaler suffisamment ces chromosomes minuscules et si la garniture des cellules normales comprend le plus fréquemment 74 autosomes, plus un gonosome Z chez la poule et deux chez le coq, certaines divergences ont été notées et les variations décrivent entre 71 et 76 autosomes (78).

b) Autres cancers aviaires

DELEON et COLL.en 1973 (36) sont parvenus à réaliser des caryotypes précis sur des cellules d'un dysembryome rénal de poulet. Cette étude leur a ainsi permis de comparer du tissu rénal normal à un tissu rénal ayant subi une transformation maligne s'accompagnant d'une différenciation de certains tissus qui ne se produit pas normalement. Ils n'ont constaté aucune anomalie numérique ou structurale.

Avant eux, seuls quelques auteurs avaient décelé des cellules hyperploïdes dans des tissus néoplasiques par l'action d'un virus aviaire oncogène :

- PONTEN en 1963 sur le sarcome de ROUS (146).

- BAYREUTHER et THORELL en 1959 sur des leucémies érythroblastiques de poulets (9).

- DELEON et LACOUR en 1966 sur des leucémies myéloïdes de poulets (36).

4 - Le lymphome du brochet

WHANG-PEN, SONSTEGARD et DAWE en 1976 (193), étudient les chromosomes de tissus néoplasiques prélevés sur 78 brochets atteints d'un lymphone malin afin de les comparer au caryotype normal de ce poisson.

Cette affection, dont l'étiologie virale est encore discutée, se caractérise par l'apparition de nodules lymphatiques cutanés qui peuvent s'étendre aux muscles, puis apparaître sur les organes hématopoïétiques, dans les derniers stades de la maladie qui précèdent une leucémie fatale. Elle est répandue dans les eaux des Grands Lacs d'Amérique du Nord.

Les analyses de ces chercheurs portent sur les cellules tumorales cutanées et sur le tissu rénal apparemment encore intact des poissons malades.

Le caryotype normal du brochet renferme 50 chromosomes acrocentriques mais les techniques utilisées ne peuvent permettre d'identifier les chromosomes sexuels des poissons.

Ils obtiennent sur 19 brochets des préparations cutanées intéressantes qui leur montrent une image chromosomique constamment retrouvée sur toutes les cellules : 1 chromosome submétacentrique, 1 chromosome minute et 3 à 5 paires de chromosomes plus petits que des normaux.

Le tout est renfermé dans des caryotypes présentant de 42 à 68 chromosomes, 99 % des cellules étant situées entre 47 et 52 chromosomes.

Les cellules du tissu rénal présumé normal présentent, elles, sur 41 brochets étudiés, atteints de lymphome, 2 cas seulement de cellules anormales mais toujours avec le même tableau chromosomique décrit sur des cellules de lymphome cutané.

Voilà encore un excellent exemple de tumeur animale présentant une " signature " caryotypique. Sa régulière fréquence pourrait même nous amener à considérer le lymphome du brochet comme résultant d'une greffe de cellules tumorales transmissibles par contact sur le modèle du sarcome de STICKER.

Malheureusement notre incapacité à distinguer les chromosomes sexuels n'a pas permis de reproduire la démarche utilisée par KIM et COLL.(87) sur la leucémie lymphoblastique du poulet. Et comme cette affection est transmissible expérimentalement par inoculation, l'hypothèse d'un virus oncogène est encore retenue.

5 - Leucémies et sarcomes des mammifères de laboratoire

Les cancers reproduits sur des animaux de laboratoire à partir de carcinogènes chimiques, de rayonnements ou de substances virales, font l'objet d'études approfondies.

Les cytogénéticiens sont souvent appelés à y participer et leurs publications sont très nombreuses dans ce domaine.

Ils se sont longtemps efforcés à rechercher des anomalies caractéristiques d'un agent cancérigène , mais il n'est pas décrit de résultat spectaculaire : nul facteur utilisé en laboratoire n'a induit la même anomalie chromosomique caractéristique sur tous les animaux indépendamment de leur espèce ; toutefois le rapprochement de certaines publications concernant l'action du Virus du Sarcome de ROUS (R.S.V.) mérite d'être souligné. Nous envisagerons ensuite la nouvelle orientation adoptée par la cytogénétique en cancérologie expérimentale.

a) Action du Virus du Sarcome de ROUS

Le R.S.V pathogène dans la nature pour les poulets, a servi à la fin des années 1960 de modèle de base aux études des cytogénéticiens en virologie. Il reproduit en effet très régulièrement après inoculation expérimentale un sarcome chez la souris, le hamster et le rat.

KATO en 1968 (83) remarque que, sur le hamster, ce virus entraîne uniquement des anomalies numériques où prédomine la trisomie des chromosomes 5, 6 ou 10 (la garniture chromosomique normale d'un hamster est de 22 chromosomes métacentriques ou submétacentriques parfaitement identifiés et appariés).

Sur le rat qui possède normalement 42 chromosomes métacentriques, submétacentriques ou télocentriques, MITELMAN et MARK en 1970 (122) remarquent que les cellules tumorales présentent une hyperploïdie identique marquée par la trisomie d'un ou plusieurs télocentriques, sans arriver toutefois à préciser s'il s'agit toujours des mêmes.

Sur la souris, au génotype normalement constitué de 40 chromosomes, MARK en 1967 (109) a remarqué également un degré d'hyperploïdie élevé mais sans constater que certains chromosomes soient plus concernés

que d'autres.

KATO en 1968 (84) a même vérifié dans ses expérimentations que les images cytogénétiques engendrées par le R.S.V sur ces animaux de laboratoire étaient bien différentes de celles occasionnées par l'administration d'hydrocarbures carcinogènes. (Le 7, 12 et le 7, 8, 12 DIMETHYLBENZ (a), ANTHRACENE D M B A.) Toutefois il a souligné que les anomalies constatées sur ces cancers débutaient elles aussi par des trisomies et que, au fur et à mesure de l'évolution du processus néoplasique,cette hyperploïdie avait tendance à se transformer en tétraploïdie (soit 4 n chromosomes), anomalie la plus souvent rencontrée dans les phases sub-létales de la maladie.

Ces similitudes, même si elles ne se retrouvent pas systématiquement dans toutes les cellules étudiées, sont néanmoins intéressantes à remarquer.

b) La leucémie du cobaye

Devant leur inaptitude à caractériser bien précisément l'action chromosomique des facteurs cancérigènes, les cytogénéticiens ont abordé après ces travaux, la cancérologie d'une manière différente.

En effet, les cytologistes ont réussi à isoler et à cultiver des lignées cellulaires leucémiques prélevées initialement sur des animaux malades et les généticiens se sont fortement intéressés à ces cellules stables.

Ainsi, ils sont parvenus à présumer que les anomalies chromosomiques constatées étaient caractéristiques, plus que de l'agen étiologique, de la lignée cellulaire affectée.

La leucémie lymphoblastique du cobaye a été décrite pour la première fois par CONGDON et LORENZ en 1954 (29). Elle affecte spontanément 3,3 % de ces animaux âgés de 1 an ou davantage. Ces chercheurs ont réussi à établir 5 lignées cellulaires transplantables et cultivées in vitro, mais sur ces 5, 4 ont été perdues au fil des années et aujourd'hui, 27 ans plus tard, il n'en subsiste qu'une : la lignée L_2 C.

C'est celle-là que WHANG-PEN en 1977 (192) a soumis à une étude cytogénétique approfondie pour la comparer aux travaux précédents (WEPSIC et COLL.,1970 (190),).

Le caryotype normal du cobaye présente 64 chromosomes acrocentriques, métacentriques et submétacentriques parfaitement identifiés et appariés : (64, XX) pour la femelle et (64, XY) pour le mâle.

En tant d'années de manipulation, la lignée L_2 C , a subi quelques variations légères qui ont amené les auteurs à la diviser en 5 sous-unités mais il est remarquable que :

- toutes ont un petit marqueur métacentrique supplémentaire (M_1) très certainement formé par une translocation t (2 p ; 12 q) qui est considéré comme caractéristique de la leucémie L2 C du cobaye.

- beaucoup présentent des délétions sur les chromosomes 2 et 3 et des additions sur un petit bras du chromosome X.

Toutefois, il n'a pu être décelé d'apparentes relations entre les caractères immunologiques, facteurs différenciant ces 5 sous-unités, et l'absence ou la présence d'autres chromosomes marqueurs.

Enfin quelques observations intéressantes, mais les leucémies des souris ont fourni un matériel d'étude encore plus passionnant.

c)- Les leucémies murines

On s'est aperçu que, sur les souris, certains lymphomes affectaient préférentiellement les lymphocytes T. Les cytogénéticiens ont donc étudié ces lymphocytes dans les leucémies dont l'agent étiologique déterminait une lymphocytose T. Cela a donné lieu à une multitude de publications décrivant les anomalies chromosomiques des leucémies à lymphocyte T :

- d'origine virale : SPIRA et COLL.en 1979 (172) pour le virus de MOLONEY, WIENER et COLL.en 1978 pour la Radiation Leukaemia Virus (Rad-L V).

- d'origine chimique : WIENER et COLL.en 1978 (196), pour le 7, 12 D.M.B.A.

- radio-induites : CHANG et COLL.en 1977 (27) pour l'irradiation X

- ou spontanées : DOFUKU et COLL.en 1975 (39) pour les souris A K R.

Tous, sans exception, sont d'accord sur la grande fréquence de la trisomie 15. WIENER et COLL.en 1978 (195) ont même réussi à localiser sur la branche distale du chromosome 15 les gènes qui doivent être nécessairement dupliqués pour entraîner la leucémogénèse.
Il a noté en effet, que lorsqu'il se produisait une translocation sur ce chromosome, celle-ci se retrouvait sur la même portion des 3 chromosomes, et cela indépendamment de l'agent responsable de la leucémie.

Encore une donnée intéressante pour les cytogénéticiens qui semble couronner les efforts accomplis depuis la découverte du chromosome Philadelphie.

Mais il ne faut pas s'arrêter à cette étape. Effectivement, en 1979, OHNO et COLL.(134), étudiant les caryotypes de souris atteintes de plasmocytome, découvrent que reviennent avec une constance identique la translocation t (12 ; 15) et, plus épisodiquement, la translocation (6 ; 15). Encore une fois le chromosome 15 est mis en question. De plus, il s'est avéré que ces affections sécrétaient des immunoglobulines A et KAPPA , aussi, est-il remarquable de noter que les chromosomes 12 et 6, intéressés par les translocations décrites, sont bien connus pour porter respectivement les gènes responsables de la sécrétion des Ig A et des Ig KAPPA.

Voilà un mécanisme d'action qui semble encore se préciser.

Enfin rajoutons la publication en 1980 du professeur KLEIN et COLL.(88), responsable du groupe d'étude dont tous les membres souvent nommés méritent d'être cités : OHNO, SPIRA, WIENER et HARAN-GHERA.

Ils étudient les leucémies à lymphocytes B, telle celle induite par le virus d'ABELSON. Ils ne trouvent là pas de caryotypes anormaux même après une culture de plusieurs jours. Or le virus d'ABELSON est connu pour porter dans son patrimoine génétique une insertion de l'information cellulaire de la souris. Ils avancent donc l'hypothèse que ce matériel génétique murin, intégré avec le génome viral dans la cellule de la souris, agirait comme un troisième chromosome suffisant pour entraîner le processus malin. Ils sont d'ailleurs confortés dans leur opinion par le fait que cette leucémie, ayant plus rapidement acquis sa trisomie indispensable, possède effectivement une période de latence très brève, bien plus courte que celle des leucémies citées au préalable.

Et le professeur KLEIN, fort de ces constations et de celles réalisées en médecine humaine, conclue qu'il existe quatre types d'anomalies chromosomiques régulièrement associées à certains types de leucémies :

1 - le chromosome Philadelphie et la leucémie Myéloïde chronique.

2 - La translocation réciproque (8 ; 14) associée au lymphome de BURKITT et à la leucémie lymphoblastique aigüe à cellules B, deux cancers qui semblent provenir du même type cellulaire.

3 - La translocation (12 ; 15) et les plasmocytomes chimiquement induits de la souris.

4 - La trisomie 15 et les lymphomes à cellule T de la souris.

Pour notre part, il nous paraît indispensable d'y ajouter le grand intérêt de la méthodologie cytogénétique en médecine vétérinaire. En effet, outre la recherche d'anomalies acquises caractéristiques ou de malformation congénitale, les cytogénéticiens peuvent faire progresser l'étiopathogénie des cancers ; ils recherchent notamment :

- l'existence d'un clone parasitaire.
- l'anomalie caractéristique d'un facteur cancérigène déterminé.
- l'anomalie caractéristique de l'atteinte d'une lignée cellulaire précise.
- l'importance des trisomies sur les animaux de laboratoire
- les chromosomes responsables du processus malin.

Ils ouvrent ainsi la voie aux biochimistes qui préciseront sur ces chromosomes inculpés, les gènes responsables ou les sites d'intégration des virus. Il viendra peut-être le jour où l'association de leurs travaux permettra l'élaboration de thérapeutiques parfaitement adaptées aux cancers.

-:-

C - LA LEUCOSE BOVINE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Le professeur PARODI, chef de file du groupe d'étude français sur la leucose bovine définit en ces termes la leucose bovine :

" les leucoses, ou hémopathies malignes, sont des affections néoplasiques malignes des tissus hémolymphopoïétiques. Elles sont caractérisées par une prolifération incontrôlée des cellules d'une lignée sanguine. Dans l'espèce bovine, l'hémopathie de loin la plus commune est la leucose lymphoïde. Elle est dénommée couramment leucose bovine (L.B.) ou encore leucémie bovine ou lymphosarcome bovin ". (143).

Si le premier cas a été décrit voici plus d'un siècle par LEISERING (1858) (94), les cytogénéticiens ne s'y sont intéressés qu'à partir des années 1960. Les premières publications émanèrent des pays occidentaux dont les chercheurs s'orientèrent vite vers l'étude des mécanismes d'action intimes. Les Nations d'Europe de l'Est prirent un relais plus descriptif mais qui les amena néanmoins à une étude rationnelle de la transmission héréditaire de cette affection.

Nous nous bornerons à ne citer ici que les principaux travaux de cytogénétique ayant servi de tremplin à ceux auxquels nous avons été associés dans le laboratoire de cytogénétique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE.

En 1960, BAYREUTHER (8) le premier étudia la constitution normale des chromosomes sur des cellules d'une tumeur primaire prélevées sur deux bovins à lymphosarcome. Il ouvrait la voie à de nombreux cytogénéticiens vétérinaires qui se penchèrent sur la question.

1 - Dans les années 60, Américains et Scandinaves :

Les précurseurs

En 1964, les Canadiens BASRUR, GILMAN et MC SHERRY (7) rapportent avec précision les premières anomalies constatées dans des cellules de ganglions lymphatiques prélevés sur une femelle Holstein atteinte de L.B. Ils constatent déjà une forte proportion de cellules hyperploïdes : sur 64 mitoses, 39 possèdent 61 chromosomes et 9 en présentent 62. ILs notent également des " réarrangements " concernant les chromosomes 25 et 29 sur un caryotype présentant 3 X , l'animal ne présentant aucun signe Phénotypique d'intersexualité, ce qui est normal dans la mesure où l'anomalie observée est acquise et localisée à certains tissus, le tissu lymphoïde ici étudié.

Le même mois, à l'Ecole Vétérinaire de Philadelphie (U S A), HARE, MC FEELY et COLL.(73) publient une étude préliminaire portant sur 9 cas de leucose bovine. Ils analysent simultanément les lymphocytes prélevés sur des ganglions et dans le sang périphérique. Ils décrivent un fort degré d'hyperploïdie sur les cellules des ganglions ainsi que la disparition d'un X sur 4 animaux non apparentés. En revanche, ils ne notent qu'une proportion normale d'aneuploïdie (12 % des cellules) dans les préparations effectuées sur les lymphocytes sanguins. Ils effectuent néanmoins quelques remarques intéressantes en se référant aux résultats des cytogénéticiens de médecine humaine :

- sur un animal, il retrouvent souvent la même lignée cellulaire porteuse de la même anomalie dans chacun des ganglions étudiés. Pourquoi ces lignées ne sont-elles pas retrouvées dans les cultures à partir de sang périphérique ?

- l'importance de l'emploi de la phytohémagglutinine (PHA) dans les cultures à partir de sang périphérique : les cellules à caryotype normal qui se divisent en son absence , ne sont-elles que des cellules cancéreuses ? Cette substance mitogène a-t-elle le même effet sur les cellules cancéreuses que sur les cellules normales ?.

- les rares caryotypes sanguins anormaux sont retrouvés dans les 2 cas où l'examen hématologique révèle le plus fort pourcentage de cellules blanches.

Ils devaient d'ailleurs confirmer ces résultats trois ans plus tard après avoir étudié 38 bovins supplémentaires atteints de L.B.(75). Retrouvant toujours la ou les même(s) lignée(s) cellulaire(s) dans chaque individu, ils formulent l'hypothèse d'une tumeur d'origine unicentrique avec formation de métastases dans les circulations lymphatique puis sanguine. Ils remarquent à ce sujet là d'ailleurs une similitude avec les caryotypes effectués dans l'étude des lymphosarcomes humains. Il en est de même en ce qui concerne la responsabilité fréquente du chromosome X dans les anomalies de structure.

Quant à l'effet de la P.H.A, recoupant toujours leurs travaux avec les médecins, ils avancent l'hypothèse de 3 populations de leucocytes :

- les lymphocytes normaux répondent bien à la P H A,

- des petits lymphocytes caractéristiques d'une évolution chronique de la maladie ne se divisant ni naturellement, ni avec la P H A,

- des " blastlike ", cellules mononucléaires atypiques pouvant répondre à la P H A ou se diviser spontanément.

De toutes ces études, ils tirent a postériori la conclusion suivante (72) :

" devant la rareté des affections entraînant une anomalie chromosomique dans l'espèce bovine, nous affirmons que l'analyse cytogénétique des animaux suspects peut servir de diagnostic expérimental très fiable ".

Nulle autre équipe au monde n'effectuera par la suite d'étude approfondie sur ce sujet qui ne reprenne les idées avancées par HARE, MC FEELY et COLL.

Entre temps, toujours en 1964, les Suédois GUSTAVSSON et ROCKBORN (67) avaient publié la fameuse étude cytogénétique déjà citée, portant sur trois bovins leucosiques et le foetus de 6 mois de l'un d'eux. Ils venaient de mettre en évidence la translocation robertsonienne 1 ; 29 dont l'équipe de Philadelphie démontra en 1966 l'indépendance de tout phénomène néoplasique (71). Seul le hasard avait voulu que ce qui aurait pu être une anomalie acquise caractéristique, tel le chromosome Ph 1 pour la L.M.C humaine, se rencontrât sur des sujets leucémiques. Ce n'était en fait qu'une particularité chromosomique constitutionelle retrouvée en France en 1972 par DARRE, QUEINEC et BERLAND (34) sur des bovins de race Blonde d'Aquitaine et de race Limousine qui s'accompagne d'une discrète réduction de la fertilité par augmentation de la mortalité embryonnaire (GUSTAVSSON, 1973)(65). Et si la découverte des Suédois donna lieu à un dépistage systématique sur les taureaux des centres d'insémination artificielle, elle n'apporta rien à la cytogénétique de la L.B. Tout au plus permet-elle aujourd'hui de s'interroger : les bovins dont le caryotype révèle une telle anomalie constitutionnelle, présentent-ils un terrain favorisant les leucémies de la même façon que les trisomiques 21 humains ?

A notre connaissance, nul n'a démontré une telle relation. Encore faut-il préciser la difficulté d'une enquête statistique sur ce sujet,

la t (1 ; 29) n'étant découverte qu'exceptionnellement sur les races laitières alors que celles-ci sont beaucoup plus sensibles à la L.B. que les races bouchères.

Le relais est ensuite repris par SCOTT en 1969 (166) et surtout par les Allemands WEINHOLD et MULLER qui en 1970 (187) et en 1971 (189) publient leurs travaux sur la question. Ils comparent les caryotypes de 38 bovins leucosiques à ceux de 25 animaux indemnes de L.B. à partir de lymphocytes prélevés dans le sang et dans les ganglions. Dans les animaux sains ils trouvent une proportion normale d'aneuploïdie, de l'hypoploïdie exclusivement. En revanche, ils dénombrent sur les malades une forte proportion d'hyperploïdie dans les noeuds lymphatiques, 10 à 14 % des cellules renferment de 65 à 120 chromosomes. Ils notent également l'apparition dans 2 % des cas d'un grand chromosome submétacentrique supplémentaire, identique à un X, provenant vraisemblablement de la fusion de 2 autosomes télo ou acrocentriques.

Ils ne font finalement que conforter les observations de HARE et COLL.(75) touchant l'hyperploïdie et la fusion des chromosomes.

2 - Dans les années 70, relais des pays socialistes

Depuis 1972, les pays de l'Est de l'Europe consacrent eux aussi, beaucoup de temps à l'étude de la cytogénétique de la L.B. Ils se sont en effet rendu compte de l'étendue de cette hémopathie maligne dans leur cheptel. Il nous serait encore impossible de répertorier toutes les publication la barrière linguistique étant souvent difficile à franchir.

a) Les Polonais

En 1972, ce sont les Polonais ZEBROWSKI, MAJEWSKA et BATKO (200), de PULAWY qui étudient 3 familles de bovins " Rouges de Pologne" dont l'une, renfermant plusieurs cas de L.B , révèle un fort taux d'anomalies chromosomiques : hyper et hypoploïdie, anomalie des gonosomes.

De la fréquence des aberrations dans cette famille, ils déduisent une plus grande susceptibilité héréditaire à contracter cette affection, ce que plusieurs épidémiologistes confirmeront par la suite. Et, bien qu'ils se gardent d'en justifier une explication génétique de la leucémie, ils n'hésitent pas à recommander un dépistage systématique des anomalies sur le caryotype des taureaux des centres d'insémination artificielle.

b) Les Soviétiques

La même année, en 1972, le Moscovite BIRBIN (13) publie ses premières découvertes. Ses travaux paraîtront régulièrement jusqu'au dernier trimestre de l'année 1980. (14), (15) .

En 1976, (14) il effectue un premier bilan portant sur un cheptel de 68 vaches dans des états plus ou moins avancés de la maladie.

Sur les 15 cas tumoraux observés, il décrit une constance de l'hyperploïdie et des remaniements du chromosome X.

Il met également au point une méthode apparemment satisfaisante d'examen chromosomique des lymphocytes prélevés dans le sang périphérique sans qu'il soit besoin de les mettre en culture.

La dernière publication en 1980 (15) porte sur 16 vaches supplémentaires. Il remarque, fort d'une certaine expérience dans cette technologie :

- qu'il existe un rapport bien déterminé entre le degré d'hyperploïdie et le processus dynamique de la leucémie : plus le néoplasme se développe dans les tissus et dans les organes, plus l'hyperploïdie est importantedans le sang (85 à 93 %), ces observations n'étant pas retrouvées dans la moelle osseuse ;

- que le nombre de chromosomes supplémentaires varie entre 1 et 18 mais avec une prédominance des clones possédant de 61 à 66 chromosomes ; peu de ces chromosomes supplémentaires ne possèdent de centromère, ce qui tendrait à prouver selon l'auteur qu'ils proviennent de fractures diverses ;

- que la présence constante de chromosomes métacentriques excédentaires observés en métaphase sur deux animaux ne peut être confondue avec des artefacts résultant de la superposition de chromosomes ;

- qu'enfin les noyaux observés lors des analyses hématologiques présentent souvent des malformations structurales, telles que cavités, rainures, boursouflures, fissures qui doivent être reliées bien évidemment aux anomalies chromosomiques à l'intérieur.

Il tire de cela une conclusion d'ordre pronostique : la présence de cellules chromosomiquement marquées dans le sang, signifie l'aboutissement tumoral de la L.B. Leur activité mitotique est augmentée à tel point que la mise en culture des lymphocytes n'est pas indispensable pour les observer.

A partir de 1974 et 1975, (19) (40) autour de DUN, une équipe de l'Institut d'Expérimentation Vétérinaire de Moscou comprenant BURBA, GOLOVCHENKO, GORBATOV et COLL. publient jusqu'en 1979 (20) (53), une série d'articles sur le caryotype des bovins leucosiques. Ils mettent en place des fistules permanentes dans les canaux lymphatiques où ils dénombrent 70 % de lymphocytes aneuploïdes avec toutefois ici prédominence d'hypoploïdie (48 %). Ils effectuent également des prélèvements sur la moelle osseuse sternale pour trouver 40 % de cellules aneuploïdes chez les malades contre 14 % seulement sur des bovins indemnes.

En 1978 et 1979, ils font des observations sur la descendance de ces animaux ; ils comparent 40 animaux âgés de 2 à 3 ans et issus de vaches malades à 10 produits de bétail sain. Ils effectuent des biopsies sternales à intervalles réguliers de 3 à 6 mois.

Sur 30 jeunes provenant des bovins leucosiques, ils comptent 30 à 40 % de métaphases aneuploïdes et 18 % sur le jeune bétail sain. De plus, bien que cette proportion ait diminué avec l'âge, elle ne retombera jamais au niveau du bétail sain. Cela, remarquent-ils encore, n'est toutefois évident qu'à partir de 2 à 4 mois d'âge alors que la formule sanguine est encore normale, 2 à 20 mois plus tard l'état leucémique étant confirmé sur quelques animaux.

Il est regrettable que leurs publications ne mentionnent jamais une tentative d'identification des chromosomes manquants. On pourrait avancer que la technique défectueuse des Soviétiques est responsable de la perte de quelques chromosomes en cours de manipulation, mais gardons-nous d'une explication aussi simpliste : le pourcentage d'aneuploïdie observé chez les animaux témoins est parfaitement identique aux données des manipulateurs occidentaux.

Laissons donc à ces auteurs la primauté de souligner un nouvel intérêt des analyses caryotypiques, celui de prévoir dès le plus jeune âge le développement d'un processus cancéreux. Ils concluent (53) que

" les modifications chromosomiques, créant une source de variabilité continuelle et auto-entretenue au niveau de la population cellulaire, seraient potentiellement leucémogéniques ".

Il nous faut également citer pour mémoire quelques autres équipes Soviétiques.

OSTROUSKAYA de 1975 à 1978 (137), (138) colore à l'acétate de carmin des préparations effectuées à partir de lymphocytes provenant de noeud lymphatique et de rate.

Par rapport à des bovins sains, il constate une activité mitotique des lymphocytes bien meilleure (0,1 % contre 0,03 %), des variations chromosomiques dans 20 % des cellules et des variations du génome dans 3 %.

En 1976, OSMAN (136), de l'Académie Vétérinaire de Moscou confirme l'hyperploïdie avec une prédominance des cellules à 61 chromosomes, sans préciser toutefois l'origine du ou des chromosome(s) excédentaire(s).

MUTUZKIN et COLL.(127) (128), quant à eux, remarquent en 1977 une grande variabilité de l'aneuploïdie entre les cellules de la lymphe et celles de la moelle osseuse. De tous les organes du système hématopoïétique, la moelle présente le plus fort taux d'anomalies. Ils suggèrent donc sa plus grande part de responsabilité dans le processus cancéreux. Ils retiennent également un intérêt diagnostique.

Le volume des travaux mis en oeuvre sur ce sujet par les scientifiques d'U R S S est en relation avec l'intense politique d'éradication de la leucose bovine menée par les organismes agricoles.

c)- Les Roumains

Dans ce pays aussi, de nombreux cytogénéticiens se sont intéressés à la L.B..

Les chercheurs de l'Institut de Virologie de Bucarest, tout d'abord, autour de NASTAC, HOZOC et ATHANASIU (129), réussissent en 197 à isoler une lignée cellulaire dénommée " C T 384 " à partir des fragments de ganglion lymphatique d'une vache leucosique. Ils décrivent 3 ans plus tard avec PREDESCU (151) l'aspect cytogénétique de ces cellules confirmant, outre la présence de diverses anomalies de structure, la prédominance d'aneuploïdie (36 %) et plus encore d'hyperploïdie (30 % des cellules analysées).

Mais les publications roumaines les plus intéressantes sont celles du groupe formé autour de LUNGEANU et PAUNESCU (104) (105). Ils étudient de 1976 à 1978 les chromosomes de 37 bovins atteints de leucose hématologiquement confirmée ainsi que de 7 de leurs produits et de 29 ovins expérimentalement inoculés. Ils constatent sur les premiers 21 à 89 % d'aneuploïdie et celle-ci, semble affecter préférentiellement les chromosomes 24, 29 et 27 (trisomie ou monosomie par exemple) et quelquefois le gonosome X.

Ces résultats sont les premiers pas vers une tentative d'identification précise des chromosomes responsables de la cancérogénèse.

Comme les Soviétiques BURBA et DUN (20), ils étudient les caractéristiques cytogénétiques des veaux. Ils constatent là aussi des modifications structurales multiples dans 11 à 43 % des cellules : ruptures mono et isochromatidiques, pulvérisations, chromosomes minute, et ceci principalement chez les sujets les plus jeunes (6 à 10 jours après la naissance) provenant de mères où le microscope électronique a révélé la présence du B.L.V. Elles sont accompagnées de modifications numériques diverses chez ces nouveaux-nés et chez ceux âgés de plus d'un an.

Ils notent sur les ovins inoculés des anomalies identiques apparaissant dès le 16 ème jour après l'inoculation mais une tendance à la réorganisation vers le 226 ème jour.

Enfin ils décrivent une aberration structurale nouvelle apparue sur tous les animaux (ovins, bovins jeunes et adultes) porteurs de particules virales de type C caractéristiques du B L V : la " Premature Condensation of chromosomes " , la P C C, qui résulte de la fusion de 2 noyaux cellulaires en différentes phases de division (prophase et métaphase par exemple) ; elle entraîne une précipitation du matériel chromatique dans le noyau et ainsi son incapacité à évoluer vers une phase ultérieure de division. Ils rattachent ce phénomène ainsi que la polyploïdie décrite avec eux par de nombreux autres auteurs (40,75) à la capacité du B.L.V d'induire des syncitia,

DIGLIO en 1976 (38) avait en effet décrit cette faculté comme un caractère différenciant le B.L.V des autres virus oncogènes de type C.

Quelles sont les conclusions qu'ils en tirent ?

- l'aneuploïdie est un trait caractéristique de la L.B.

- elle n'affecte pas tous les chromosomes mais seulement quelques paires (24, 27, 29 et X). Nous verrons dans le chapitre suivant que ceux-ci pourraient porter les gènes régulateurs de la cancérogénèse, normalement contrebalancés par leur complément, et ainsi, soit par hyperploïdie d'un gène expresseur ou par hypoploïdie d'un répresseur, permettre au génome viral intégré de se manifester.

- le virus, dont on retrouve des particules C dans les cellules des ovins inoculés, a un fort pouvoir mutagène initial mais qui se stabilise par la suite.

- le phénomène de P C C, enfin, est une altération du génome constatée à la fois sur les animaux expérimentalement inoculés, sur le donneur et sur sa descendance.

Les conclusions qu'ils ont tirées de leurs expérimentations n'ont été, bien sûr, avancées qu'à titre d'hypothèses, mais nous verrons qu'elles peuvent servir à élaborer certaines théories sur le mécanisme d'acti des virus oncogènes des animaux.

Les observations menées dans le laboratoire de cytogénétique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse s'inscrivent dans le prolongement de ces travaux et visent à établir quelles peuvent être en France les particularités chromosomiques présentées par les bovins leucosique

CHAPITRE SECOND

EXPERIMENTATIONS

A - LA LEUCOSE BOVINE DANS LE DEPARTEMENT DES LANDES

Si nous sommes les précurseurs en France en matière de cytogénétique des bovins leucosiques, c'est pour la bonne raison que cette affection est peu répandue sur notre territoire (1,5 cas sur 100 000 animaux) et qu'elle n'a pas encore occasionné de dépistage systématique hormis dans les centres d'insémination artificielle, les élevages habilités à l'exportation et le département des Landes.

En effet, les premières enquêtes épidémiologiques effectuées dès 1964 en France par LAZAR et COLL.(93), ont montré qu'il existait de véritables foyers de leucose bovine : ainsi ils remarquent dans le département des Landes, sur un rayon de 30 kilomètres autour de la ville de Mont-de-Marsan une zone où la fréquence annuelle atteint la proportion d'un bovin sur 1000. Cela se confirmera par la suite (30).

Ces constatations ont permis au Docteur VUILLAUME, directeur du laboratoire de la Direction des Services vétérinaires des Landes, de sensibiliser le Conseil Général sur l'intérêt d'endiguer un tel fléau.
Ainsi en 1977, il fut convenu d'un plan de dépistage de la leucose bovine dans le département : pendant 3 ans, tous les animaux du canton de Mont-de-Marsan subirent un examen sanguin pérenne ainsi que tous les troupeaux landais ayant abrité un cas clinique. Malheureusement, ces mesures ne furent accompagnées que d'une prime à l'abattage des animaux cliniquement atteints et d'aucune éradication des bovins contaminés. Comme de plus ces mesures étaient uniques en France, les élus locaux décidèrent en 1980 de les abandonner tout en conservant cependant, effort louable pour les éleveurs, la prime offerte à l'abattage des animaux histologiquement cancéreux.

De cette ébauche de prophylaxie, il subsiste cependant un grand intérêt pour ce qui concerne la leucose bovine dans l'esprit du Docteur VUILLAUME et des vétérinaires praticiens landais. Nous pûmes donc établir avec

eux à l'occasion de stages en abattoir et en clientèle des contacts fort enrichissants, indispensables pour fournir le matériel d'étude au laboratoire de cytogénétique de l'E.N.V.T.

En 1979 et en 1980, il fut donc mis au point un protocole qui fonctionna ainsi :

- le praticien, après l'examen clinique d'un bovin, soupçonne une leucose bovine ;

- il effectue les prélèvements sanguins nécessaires à une confirmation sérologique du diagnostic, analyses réalisées au laboratoire du Docteur VUILLAUME ;

- si les résultats sont positifs, ce dernier ou le praticien lui-même prévient le laboratoire de Toulouse ;

- il ne nous reste plus alors qu'à nous rendre sur le terrain afin de prélever le matériel d'étude.

A neuf reprises, les vétérinaires landais se prêtèrent à ce pesant stratagème avec la diligence nécessaire à la réussite de notre entreprise. Nous tenons à les remercier une fois encore.

Les autres cas nous furent signalés par le service de pathologie du bétail de l' E N V T sous la direction du professeur TOURNUT.

-:-

B - MATERIEL ET METHODE

1 - Matériel d'étude

Les prélèvements furent effectués par ponction stérile de la veine jugulaire à l'aide d'aiguille à usage unique et de tube sous vide aseptisés de type VACUTAINER.

Le sang total est recueilli sur un anticoagulant, de préférence l'Héparine sodium. Une quantité de 20 ml répartie en trois tubes sera suffisante.

2 - Mise en culture

L'observation des chromosomes sera ensuite effectuée sur les lymphocytes préalablement cultivés selon la microtechnique de de GROUCHY (1964), (60).

La mise en culture est réalisée sur du milieu 199, modifié, complémenté avec 30 % de sérum bovin, 200 unités de pénicilline et 0,1 mg de streptomycine par ml ; la phytohémagglutinine M (WELLCOME) a été ajoutée au milieu à raison de 0,2 ml de la solution pour 20 ml de milieu.

Deux échantillons de 1 ml de sang total sont transférés dans des tubes à fond rond contenant 20 ml de milieu et placés en étuve pendant 72 heures à la température de 37° C. 2 heures avant le traitement des cellules, 2 ml de Colchicine (Colchineos Houdé) sont ajoutés au milieu.

3 - Traitement des cellules et étalement sur lames

Après élimination du surnageant, le culot cellulaire de centrifugation est mis en suspension dans un milieu hypotonique citraté

pendant une durée de 15 minutes. La fixation est pratiquée en une seule fois avec la liqueur de CARNOY. L'étalement sur lames est suivi d'un séchage à l'air chaud et enfin d'une coloration au Giemsa.

4 - Photographies

Les métaphases sont observées au microscope et photographiées sur Micro Film 24 x 36 à grain extrêmement fin RECORDAK. Après tirage et agrandissement (environ 5000 fois), les positifs sont découpés pour l'établissement des caryotypes.

-:-

C - PRESENTATION DES ANIMAUX ETUDIES

1 - Symptômes de la leucose bovine (143)

Nous savons, c'est à peu près certain maintenant que la maladie est due à un Oncornavirus, le B L V (117), et nous verrons que le " contage " du jeune bovin s'effectue dès la naissance au contact d'une mère porteuse du virus (47).

Les animaux peuvent ainsi porter le B L V toute leur vie sans extérioriser de développement tumoral à coup sûr fatal.

Les bovins contaminés sont nombreux et ont été répertoriés dans les Landes mais nous avons préféré limiter nos investigations aux cas cliniques d'évolution terminale, la littérature nous ayant appris que les lymphocytes sanguins de ces animaux fournissaient une meilleure source d'anomalies chromosomiques (14).

Les animaux atteints de leucose enzootique présentent tout d'abord des symptômes généraux : asthémie, amaigrissement brutal, diminution de la lactation, polypnée et parfois tachycardie. Ils sont annonciateurs des signes fonctionnels caractéristiques d'un développement tumoral affectant quasiment tous les ganglions et de nombreux organes.

Les animaux présentent alors une hypertrophie ganglionnaire débutant par les cervicaux avant de s'étendre à tous les autres. Ainsi le clinicien observe à l'oeil nu une augmentation de volume parfois spectaculaire des ganglions cervicaux, préscapulaires, précruraux et rétromammaires ; ils restent cependant froids, très fermes, ovoïdes, lisses, mobiles sous la peau, bien délimités et indolores. Une palpation rectale révèlera que les ganglions profonds ne sont pas épargnés : l'hypertrophie des ganglions iliaques et mésentériques, pourra même entraîner constipation et dystocie.

On parle alors de polyadénomégalie ou de macroadénopathie généralisée.

Les localisations viscérales sont révélées par certains signes aigües cliniques : diarrhée si le tube digestif, notamment la caillette, est atteint, stase jugulaire et grande insuffisance cardiaque lors de localisation sur le coeur, quelquefois même exophtalmie due à une infiltration rétro-orbitaire.

Enfin l'autopsie dévoilera une atteinte généralisée des organes hémolymphopoïétiques : outre les ganglions lymphatiques profonds, la rate présente une hypertrophie diffuse infiltrée de nombreuses granulations bleu grisâtres et le foie, de volume également augmenté, un aspect jaunâtre marbré d'un fin réseau grisâtre.

Toutefois, le praticien rural appelé au chevet d'un bovin qu'il soupçonne d'être atteint de leucose lymphoïde se doit de compléter son diagnostic clinique par des examens de laboratoire.

2 - Diagnostic expérimental

Nous avons soumis les bovins retenus pour nos études cytogénétiques à trois sortes d'analyses : hématologie, sérologie et histologie.

a) Examen hématologique

Après être contaminé par le virus mais avant d'extérioriser la phase terminale de la maladie, le bovin présente un stade intermédiaire de lymphocytose importante.

Le taux de lymphocytes a donc suscité l'élaboration de nombreuses " clefs " permettant en fonction de l'âge de l'animal d'affirmer ou d'infirmer le diagnostic.

La plus connue est celle de BENDIXEN (1959), (10) :

A G E en années	NORMAL	SUSPECT	POSITIF
0 - 1	au-dessous de 10000	10000 à 12000	au-dessus de 12000
1 - 2	" 9000	9000 à 11000	" 11000
2 - 3	" 7500	7500 à 9500	" 9500
3 - 4	" 6500	6500 à 8500	" 8500
plus de 4	" 5000	5000 à 7000	" 7000

lymphocytes par mm^3 de sang.

Tableau 1 : Clef de BENDIXEN (Danemark)

Cette méthode sévère semble s'appliquer davantage aux races laitières ; de nombreuses modifications lui ont été apportées dans chaque pays en tenant compte également de la race du bovin.

A cet examen utilisé déjà depuis longtemps, s'est ajoutée la sérologie dès que le virus a été isolé.

b) Examen sérologique

Si l'identification des particules virales est possible en microscopie électronique, la présence du B.L.V. est plus facilement démontrée par la recherche d'anti-corps spécifiques dans le sérum des bovins.

Le Docteur VUILLAUME a équipé son laboratoire en anti-gènes idoines en 1979 et nous en a facilité l'usage. Parmi toutes les méthodes expérimentales décrites, il a choisi celle de l'immuno diffusion en gélose ou A.G.I.D.(Agar Gel Immuno Diffusion) mise au point en 1972 par MILLER et OLSON sur le B L V (118).

Cette méthode simple et sensible reste l'analyse de choix qui préside aux destinées des enquêtes épidémiologiques recensant les animaux infectés. L'anti-gène utilisé renferme conjointement les polypeptides (p.24) et les glycoprotéines (gp 60) spécifiques du B L V (142).

La sérologie n'est bien sûr envisageable que du vivant de l'animal. Or la leucose, même dans le département des Landes, n'est souvent qu'une découverte d'abattoir. Dans ces cas-là, il est donc nécessaire d'avoir recours à l'histologie pour confirmer notre diagnostic.

c) Examen histologique

Pour que les animaux du cheptel landais, abattus dans un abattoir du département, bénéficient de la prime allouée à la leucose bovine au même titre qu'à la tuberculose et à la brucellose, il est indispensable que le diagnostic de leucose lymphoïde ait été confirmé sur un ganglion par le laboratoire d'anatomie pathologique du professeur PARODI (Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons Alfort). Dans ce but, Messieurs SERRIS et LAURON, techniciens de l'inspection sanitaire des Landes, effectuent sur la carcasse

suspectée un prélèvement ganglionnaire qui est acheminé dans les plus brefs délais vers le service compétent. Il y est alors constaté que (143) :

" des cellules tumorales infiltrent l'organe atteint, détruisant et effaçant les structures normales pour les remplacer par une nappe cellulaire uniforme ".

Ces cellules sont ici le plus souvent de type lymphoblastique.

Lorsque cela n'était pas réalisé sur les bovins de notre expérimentation, nous confiions des prélèvement identiques au service d'anatomie pathologique du professeur VAN HAVERBECKE (Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse) qui se chargeait de cet examen.

Nous possédions donc suffisamment de preuves pour confirmer le diagnostic de leucose lymphoïde sur tous les bovins étudiés. Examinons-les donc en détail. Le numéro affecté à chaque animal est celui donné au prélèvement dès sa réception par le laboratoire de cytogénétique.

3 - Présentation individuelle détaillée

La sensibilisation des vétérinaires praticiens landais et des enseignants de pathologie du bétail de l'E N V T ne nous a malheureusement fourni que 11 animaux sur lesquels nous ayons eu le temps d'effectuer les prélèvements " ante mortem ". De plus, soit que le sang ait été souillé ou hémolysé , soit que les lymphocytes n'aient pas répondu aux agents mitogènes, 2 cas ont dû être éliminés. Il reste donc 9 animaux atteints de leucose bovine que nous allons présenter cas après cas.

NUMERO 2475 : Bovin femelle de race française Frisonne Pie Noire (FFPN) âgée de 7 ans appartenant à monsieur C ... de LOSSE (Landes) et signalée le 5 Novembre 1979 par le docteur FAGET de Roquefort (Landes).
Le troupeau avait déjà présenté d'autre cas .

Diagnostic expérimental :

- 9500 lymphocytes
- sérologie positive
- histologie (E.N.V.A) : leucose lymphoïde.

NUMERO 2551 ; Bovin femelle de race F.F.P.N âgée de 3 ans appartenant à monsieur R ... de Seysses (Haute-Garonne) et hospitalisée dans le service de pathologie du bétail de l'E N V T le 15 janvier 1980.

Diagnostic expérimental :

- 17300 lymphocytes
- sérologie positive
- histologie (E.N.V.T) : leucose lymphoblastique.

NUMERO 2592 : Bovin femelle de race FFPN âgée de 6 ans appartent à monsieur V ... de Casteljaloux (Lot et Garonne) et signalée le 8 mai 1980 par le docteur RASCOL du même endroit.

Diagnostic expérimental :

- 10200 lymphocytes
- sérologie positive
- histologie (E N V T) : leucose lymphoblastique.

NUMERO 2629 : Bovin femelle de race F F P N âgée de 6 ans appartenant à monsieur S ... d'Aire sur Adour (Landes) et signalée par le docteur LORNE du même endroit le 7 juin 1980.

Diagnostic expérimental :

- 18500 lymphocytes
- sérologie positive
- histologie (E.N.V.A) : leucose lymphoïde.

NUMERO 2630 : Bovin femelle de race F F P N âgée de 5 ans appartenant à monsieur D ... de Bernède (Gers) et signalée par le docteur LORNE d'Aire sur Adour (Landes) le 12 juin 1980.

Diagnostic expérimental :

- 8700 Lymphocytes
- sérologie positive
- histologie (E.N.V.T) : leucose lymphoblastique.

NUMERO 2695 : Bovin mâle de race Holstein âgé de 2 ans signalé par le centre d'insémination artificielle de SOUAL le 21 novembre 1980.

Diagnostic expérimental :

- 10800 lymphocytes
- sérologie positive
- histologie non effectuée.

Ce taureau, seulement contaminé et porteur du B L V, n'extériorisant encore aucun développement tumoral, nous a intéressés car, au cours des examens caryotypiques que notre laboratoire effectue systématiquement sur tous les taureaux du centre d'insémination artificielle précité, nous avons détecté un chimérisme leucocytaire (60, XX et 60, XY), le quart environ des leucocytes circulants possédant un génotype femelle. L'animal était issu, avec une femelle soeur, d'une gémellité uniplacentaire.

Nous n'avons pu malheureusement retrouver trace de la soeur jumelle, mais nous avons trouvé intéressant de comparer la part d'anomalies chromosomiques des deux lignées lymphocytaires différentes. Nos tableaux présentent donc cette distinction.

NUMERO 2697 : Bovin femelle de race F F P N âgée de 9 ans appartenant à monsieur V ... de Bardos (Pyrénées Atlantiques) et signalée par le docteur PINAQUY à Urt (Pyrénées Atlantique le 22 novembre 1980.

Diagnostic expérimental :

- 15800 lymphocytes
- sérologie positive
- histologie (E.N.V.A) : leucose lymphoïd

NUMERO 2746 : Bovin femelle de race F F P N âgée de 8 ans et appartenant à Monsieur E ... de Luppé-violle (Gers) et signalée par le docteur LORNE le 13 décembre 1980.

Diagnostic expérimental :

- 12700 lymphocytes
- sérologie positive
- histologie (E.N.V.T) : leucose lympho-blastique.

NUMERO 2747 : Bovin femelle de race croisée Holstein - F F P N âgée de 7 mois appartenant à monsieur C ... de Arue (Landes) et signalée le 15 décembre 1980 par le docteur LAGOEYTE de Mont de Marsan (Landes).

Diagnostic expérimental

- 79200 lymphocytes
  5200 lymphoblastes
  2400000 Hématies
- sérologie négative
- histologie (E.N.V.A.): leucose lymphoïde.

Cette génisse nous a semblé intéressante car, malgré l'absence de toute trace virale, le tableau clinique présentait une polyadénomégalie très importante dont l'issue fut très vite fatale. De plus l'examen hématologique est fort révélateur et l'examen sérologique de la mère se révèle positif : celle-ci a d'ailleurs déjà perdu ses deux premiers produits en bas âge sans que le praticien ait été appelé pour établir un diagnostic quelconque.

Nous avons donc réalisé également l'étude cytogénétique en espérant pouvoir obtenir quelques résultats de la comparaison d'un animal sans virus mais avec développement tumoral (2747) et d'un animal avec virus mais sans développement tumoral (2695).

D - RESULTATS

Il nous faut, avant toute analyse, rendre compte des résultats obtenus dans nos manipulations à l'état brut. A dessein, nous avons dressé deux tableaux récapitulatifs et l'histogramme des anomalies numériques observées sur les trois cas qui se sont détachés du lot.

1 - Anomalies numériques

Le tableau numéro 2 nous montre la proportion global d'aneuploïdie : 42,5 %. Elle est nettement supérieure à celle observée sur des animaux témoins dans notre laboratoire, environ 12 %. Cette proportion est marquée par une prédominance de l'hypoploïdie : 27,7 %.

Le pourcentage de polyploïdie est tout à fait normal 2,7 %. (Nous avons déjà observé dans notre laboratoire sur des taureaux porteurs du gène culard pur jusqu'à 25 % de cellules polyploïdes !)

Toutefois, de cette analyse d'ensemble, quelques cas doivent retenir tout particulièrement notre attention.

- l'animal 2551 nous montre, grâce à l'histogramme, un pic de métaphases à 63 chromosomes : 36,2 % des cellules étudiées. On y rencontre également une forte proportion de cellules à monosomie X portant 59,60 ou 61 chromosomes : près de 6 %. On note enfin que si plus de 65 % des cellules sont hyperploïdes, près de 80 % présentent une anomalie de nombre.

- l'animal 2629 est également intéressant ; l'histogramme nous montre un clone cellulaire à 59 chromosomes représentant 28,6 % des cellules analysées.

- l'animal 2697 nous fera regretter de n'avoir pu observer plus de 32 métaphases car 18 d'entre elles se sont avérées aneuploïdes (56 %), 4 présentant même une monosomie X (12,5 %) avec des caryotypes de 64 mais aussi de 57, 59 et 60 chromosomes.

Les autres sujets ne présentent pas le même intérêt, soit que la proportion d'anomalies soit moins marquée, soit que le nombre de cellules analysées soit insuffisant.

Quant au cas 2695, il semblerait que la lignée femelle soit plus sensible que la lignée mâle, mais gardons-nous de conclure sur si peu de lymphocytes analysés. De plus, le milieu naturel étranger aux cellules femelles peut, autant que le virus, être responsable de cette distinction. Contentons nous donc de noter simplement l'absence de toute cellule hyperploïde.

2 - Anomalies structurales

Il n'est pas un animal où nous n'ayons observé un quelconque chromosome anormal, sous la forme notamment :

- d'un chromosome métacentrique supplémentaire dans une cellule à 61 chromosomes (photo 4).

- du phénomène de P.C.C déjà cité (105) (photo 6)

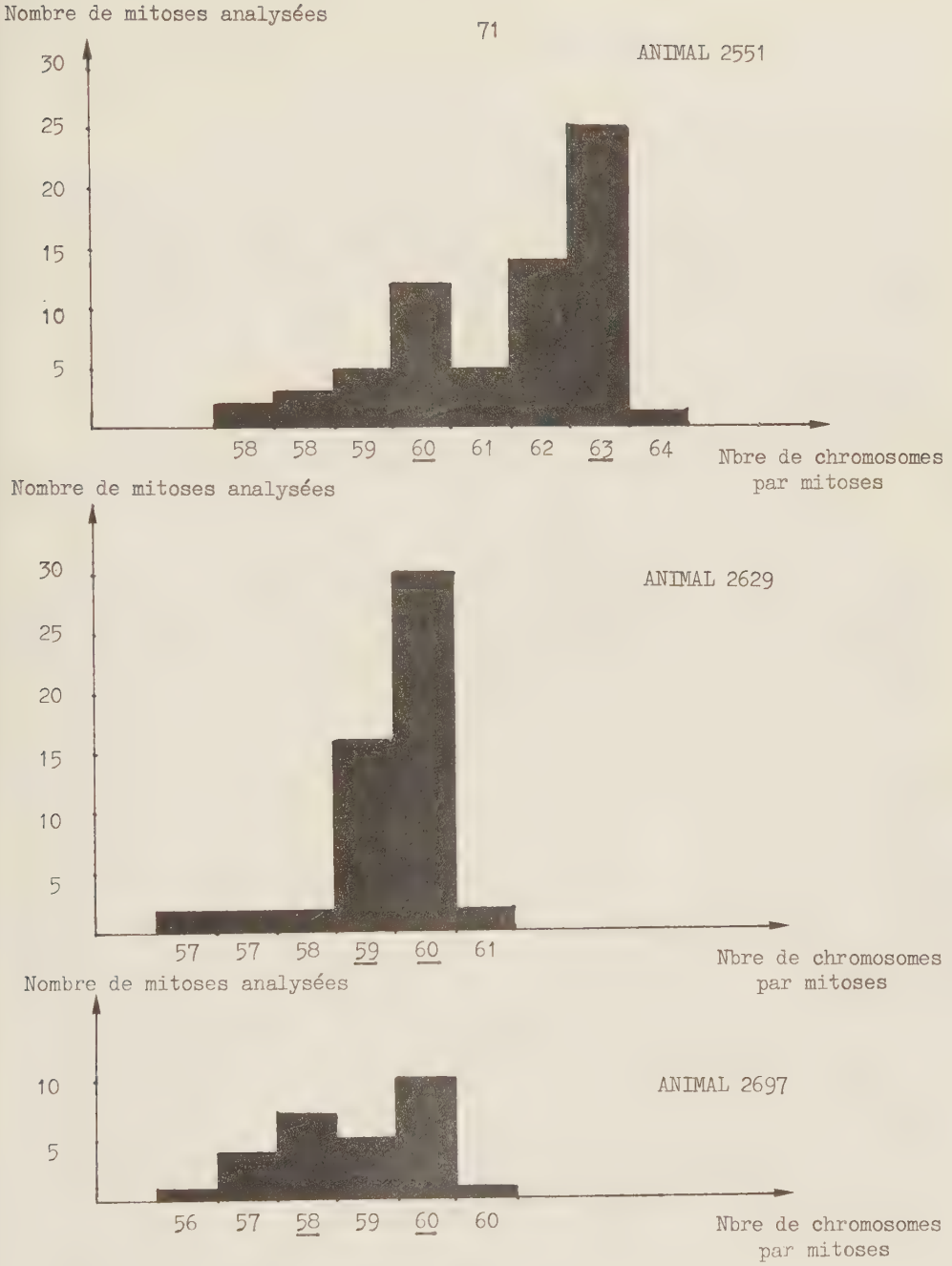
- de chromosomes " minute " (photo 7 et 8)

- de fractures multiples (photo 9) intéressant autant les petits et les grands autosomes que le chromosome X (photo 10)

- et même d'une artistique recombinaison en croix de trois chromosomes acrocentriques (photo 11).

Numéro et sexe Animal	DISTRIBUTION DU NOMBRE DE CHROMOSOMES PAR METAPHASE									TOTAL METAPHASES HYPOPLOIDES	TOTAL METAPHASES HYPERPLOIDES	TOTAL METAPHASES ANEUPLOIDES	TOTAL METAPHASES POLYPLOIDES	NOMBRE METAPHASES à MONOSOMIE X	TOTAL METAPHASES ANALYSEES
	52 à 56	57	58	59	60	61	62	63	64						
2475 ♀		2		6	34	3				8 (17,4%)	3 (6,5 %)	11 (23,9 %)	- (1 PCC)	-	46
2551 ♀	2		3	5	12	5	14	25	1	10 (14,5%)	45 (65,2%)	55 (79,7 %)	2	4	69
2592 ♀	2		4	12	49					18 (26,1%)	--	18 (26,1 %)	2	-	69
2629 ♀	2	2	2	16	31	2				22 (39,3 %)	2 (3,6 %)	24 (42,9 %)	1	-	56
2630 ♀	1			6	23					7 (21,2 %)	--	7 (21,2 %)	3	1	33
2697 ♀	1	4	7	5	10					17 (53,1 %)	1 (3,1 %)	18 (56,2 %)	1 (+3 PCC)	4	32
2746 ♀	1			2	14	4				3 (14,3 %)	4 (19 %)	7 (33,3 %)	-	-	21
2747 ♀			3	4	15	2	1			7 (25,9 %)	3 (11,1 %)	10 (37 %)	2	-	27
2695 ♂			3	7	28					10 (26,3 %)	--	10 (26,3%)	-	-	38
2695 ♀		2		5	6					7 (53,8 %)	--	7 (53,8%)	-	-	13
										109 (27 %)	58 (14,4 %)	167 (41,3%)	11 (2,7 %)	9 (2,2%)	404

TABLEAU 2 : LES ANOMALIES DE NOMBRE



SCHEMA 2 : HISTOGRAMME DES NUMERATIONS CHROMOSOMIQUES

Numéro ANIMAL	Nbre CHROMOSOMES FRACTURES			Nombre de CHROMOSOMES MINUTE	ANOMALIES de STRUCTURE DIVERSES	Nombre de METAPHASES AVEC DES ANOMALIES de STRUCTURE.	NOMBRE de METAPHASES ETUDIEES
	Petits	Grands	X				
2475 ♀	4	9	-	1	1 PCC	8 (17,4 %)	46
2551 ♀	7	15	5	2	-	27 (39,1 %)	69
2592 ♀	3	2	5	-	-	9 (13 %)	69
2629 ♀	4	11	9	2	1 métacentrique supplémentaire. 1 recombinaison en croix. 5 métaphases à chromosomes étirés.	24 (42,9 %)	56
2630 ♀	1	1	2	2		6 (18,2 %)	33
2697 ♀	-	6	-	1	3 PCC	8 (25 %)	32
2746 ♀	1	1	-	1	-	3 (14,3 %)	21
2747 ♀	2	6	2	-	-	8 (29,6 %)	27
2695 ♂	-	1	-	-	-	1 (2,6 %)	38
♀	3	-	-	-	-	1 (7,7 %)	13
						95 (23,5 %)	404

TABLEAU 3 : ANOMALIES DE STRUCTURE

L'analyse du tableau 3 nous montre que les fractures touchent davantage les grands chromosomes que les petits, ce qui peut s'expliquer par le fait que les premiers possèdent plus de matériel susceptible de subir une fracture. La proportion de chromosomes X fracturés est importante : presque 6 % des cellules.

Les sujets déjà cités dans le paragraphe précédent, sont ceux, ici aussi, dont la proportion de fracture se détache du lot (2551, 2629 et 2697).

La génisse 2747 possède également un fort pourcentage de fractures ; en revanche le taureau n'a que le taux d'un animal normal (jusqu'à 8 % dans notre laboratoire).

-:-

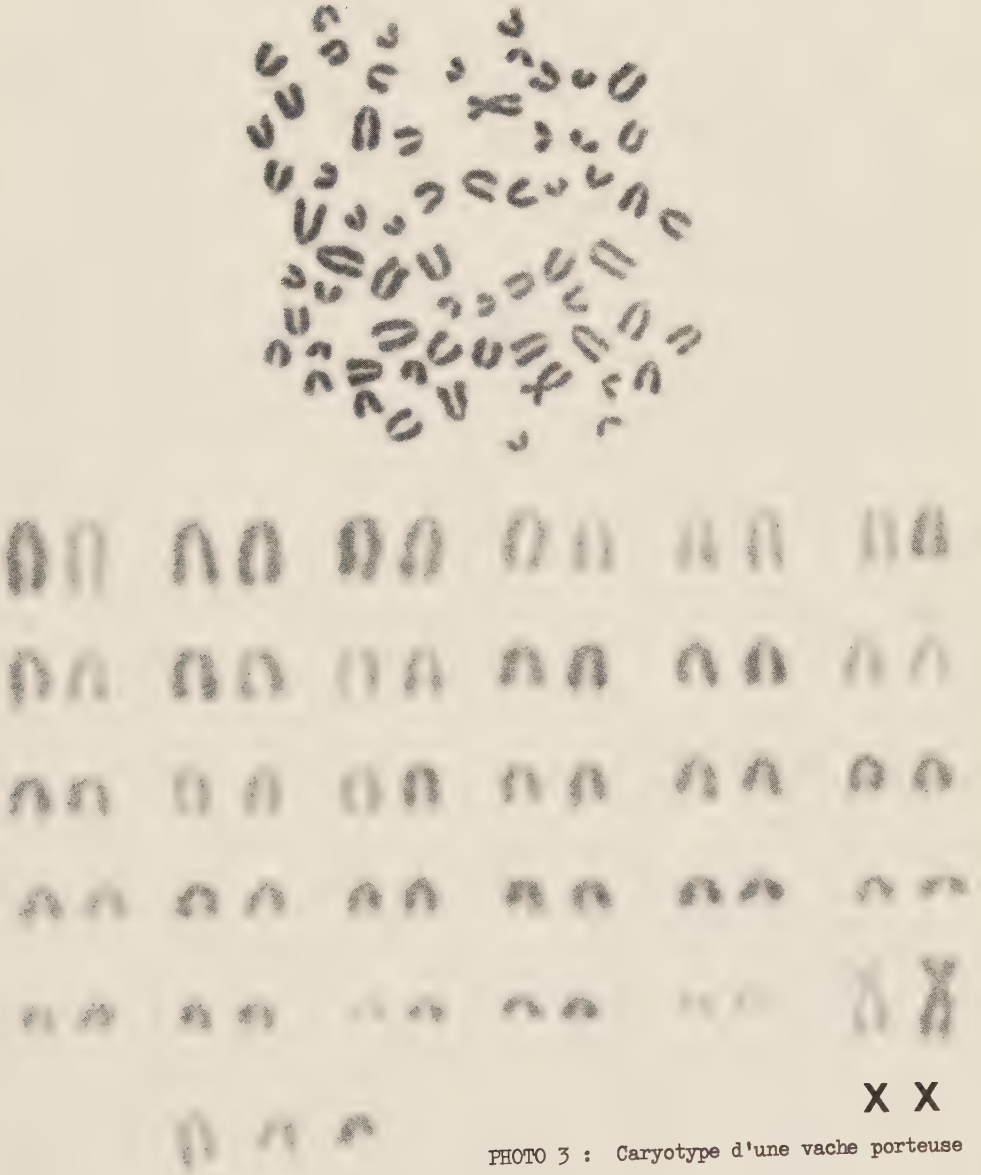


PHOTO 3 : Caryotype d'une vache porteuse d'une hyperploïdie (63, X X, + 3 A)

PHOTO 4 : Plaque métaphasique présentant un chromosome métacentrique supplémentaire (61, X X, + 1 A)

PHOTO 5 : Cellule Polyploïde (120,X X X X,)

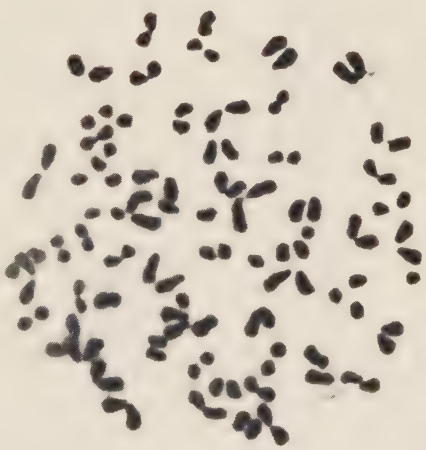


PHOTO 6 : " Premature Condensation of Chromosomes " (P C C)

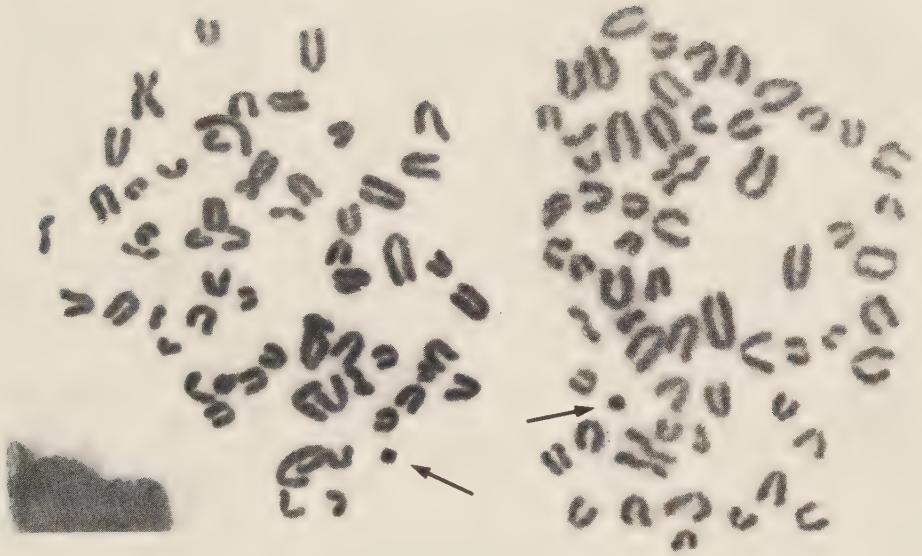


PHOTO 7 et 8 : Plaques métaphasiques présentant un chromosome Minute

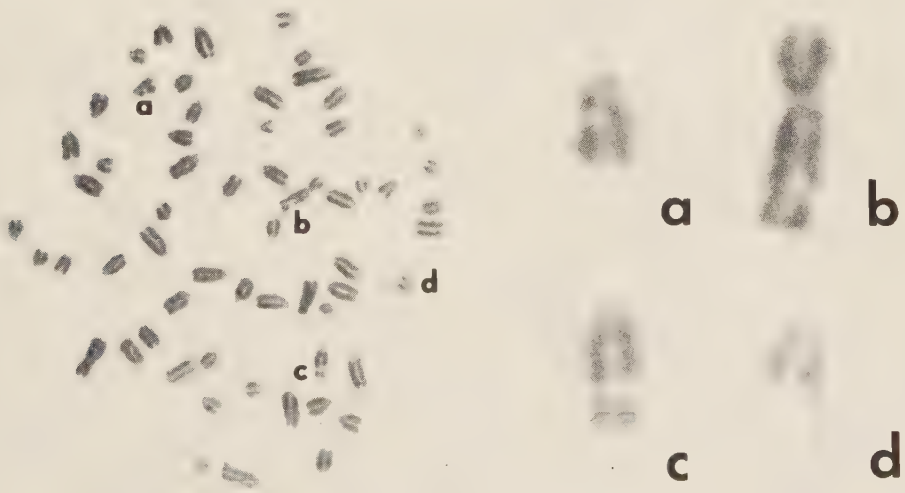


PHOTO 9 : Plaque métaphasique présentant quatre chromosomes fracturés

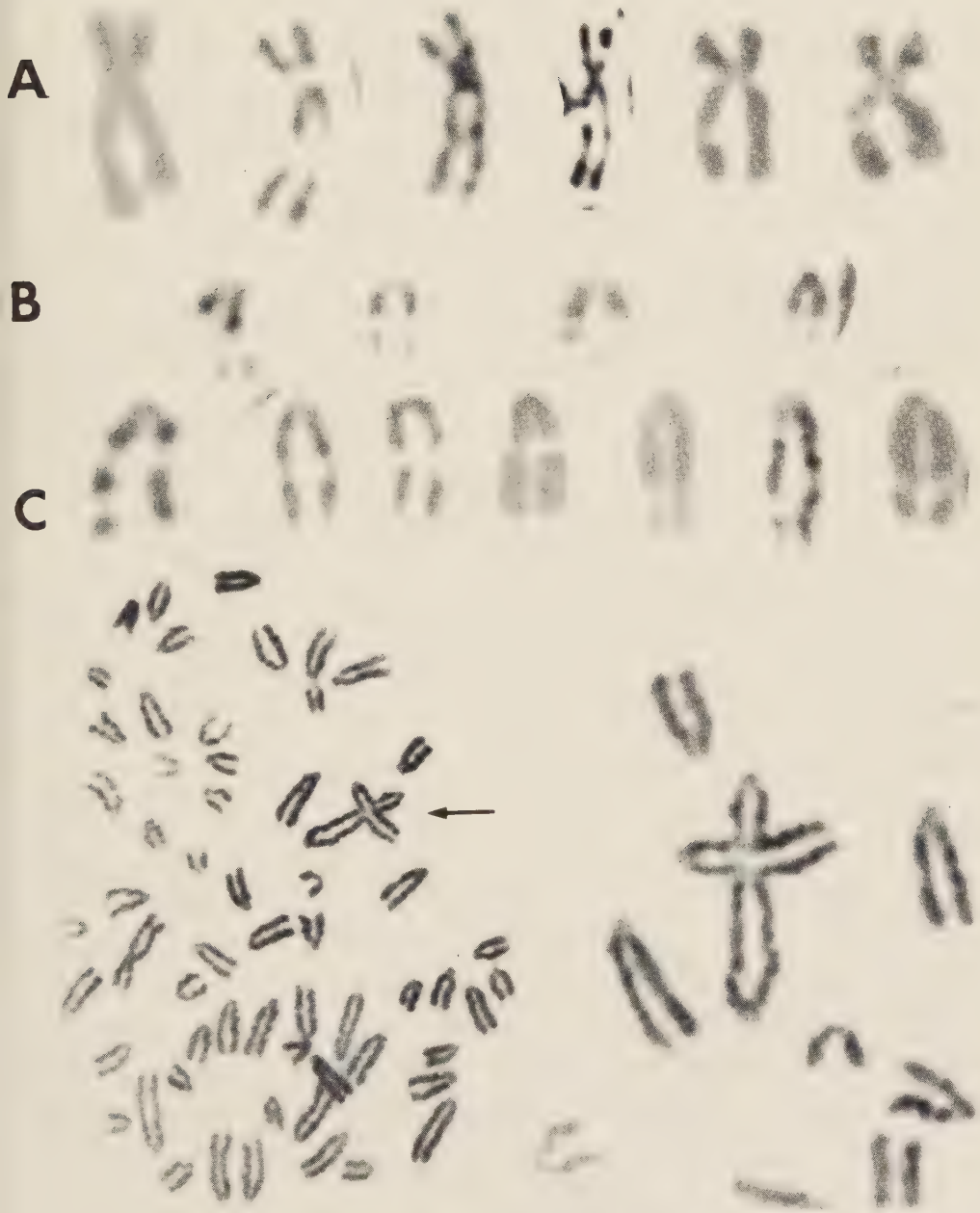


PHOTO 10 : A : Série d'X fracturés - B : Série de petits acrocentriques fracturés
C : Série de grands acrocentriques fracturés

PHOTO 11 : Recombinaison en croix de trois acrocentriques - Agrandissement

E - DISCUSSION

Il est indispensable, à ce point de nos observations de tirer la synthèse de notre travail. Permettons-nous auparavant de discuter les méthodes d'étude.

1 - La méthode

La critique de nos modestes moyens d'investigation nous a amenés àformuler deux regrets : l'un concernant le choix du matériel analysé (les lymphocytes sanguins), l'autre portant sur la technique d'identification des chromosomes.

a) Culture des lymphocytes

La culture de sang est la méthode la plus facile à mettre en oeuvre mais de nombreux auteurs la considèrent aujourd'hui comme un moyen d'étude peu précis lorsqu'elle est utilisée dans les leucémies (14) (75) (188).

Il faut tout d'abord, pour qu'elle soit positive, qu'il existe dans le sang des cellules anormales. Cela n'est pas le propre de toutes les leucoses animales qui peuvent être a - leucémiques. Nous savons en effet que les cellules sanguines naissent dans les organes hématopoïétiques avant d'être libérées dans le flux sanguin ; il en est évidemment de même pour les cellules anormales.Et c'est pour nous éviter un tel échec que nous avons effectué des examens hématologiques nous confirmant l'importance de la lymphocytose ; de plus, nous avons préféré des leucoses à développement tumoral, BIRBIN (14) remarquant que les cellules anormales étaient présentes à ce moment-là dans le sang et rarement auparavant.

Il faut également s'assurer que ces cellules anormales, une fois présentes dans nos prélèvements, soient susceptibles de se multiplier dans nos cultures, or il n'est pas certain que les cellules leucémiques s'accommodent bien d'un milieu réalisé pour des cellules normales. Ainsi, même en recourant à une culture à court terme de 48 ou 72 heures, nous risquons de favoriser la culture des lymphocytes normaux.

C'est pour cela que de nombreux auteurs préfèrent un examen direct ou semi-direct de la moelle osseuse, siège de la formation des lymphocytes anormaux. Cela permet d'éviter ce déficit en mitoses anormales tout en évitant de déformer l'image des anomalies susceptibles d'être rencontrées.

La limite de nos moyens ne nous a malheureusement pas permis de telles études. Nous avons seulement utilisé, parallèlement au sérum homologue (de bovin), le sérum isologue (de l'animal) en complément du milieu 199. Nous n'avons toutefois détecté aucune différence entre les cultures ayant choisi l'un ou l'autre des sérums. De plus, nous ne nous sommes pas contentés de l'emploi de la Phytohémagglutinine comme agent mitogène.
Sur les préparations possédant des lymphoblastes, nous avons tenté des cultures sans agent mitogène : cela n'a donné aucun résultat. Nous avons également utilisé le PokeWeed (P.K.W.) et la Concanavalline A (Con A), sachant qu'en médecine humaine le P K W est employé pour la culture sélective des lymphocytes B, la C A pour les lymphocytes T et la P H A indifféremment pour les deux populations. Là non plus, nous n'avons noté aucune différence intéressante.

Toutefois, le nombre de mitoses obtenues par animal n'est pas homogène. Il semblerait donc que la population lymphocytaire d'un individu réponde peu ou très mal aux agents mitogènes, que celle d'un autre réponde normalement et que celle d'un dernier réponde plus que la moyenne, ceci indépendamment de la présence d'anomalies structurales ou numériques.

b) Identification des chromosomes

Il est aussi regrettable que nous n'ayons pu bénéficier de la technique des bandes déjà mise au point pour les chromosomes des bovins (150).

En effet, nous n'avons pu apparier les chromosomes que par la taille et par la similitude de morphologie. Cette méthode reste tout à fait subjective et ne nous a pas permis de préciser quels étaient les chromosomes supplémentaires dans les cellules hyperploïdes (photo 3), si nous retrouvions toujours les mêmes. Cela ne nous a pas plus permis d'identifier les chromosomes subissant des fractures, hormis les X.

Nous verrons l'importance de ces précisions dans la recherche des chromosomes responsables du processus malin.

La réponse à de telles questions nous aurait certainement permis de corroborer nos résultats à ceux des équipes précédentes, notamment ceux des Roumains (105).

Souhaitons donc que le laboratoire de cytogénétique de l'E.N.Vétérinaire de Toulouse puisse bientôt s'équiper en microscopie à fluorescence.

2 - Les résultats

Il nous faut au préalable tirer les premières conclusions : les deux objectifs que nous nous étions fixés étaient de rechercher :

- soit une anomalie acquise caractéristique de la leucose bovine et retrouvée systématiquement sur tous les lymphocytes des animaux malades à l'image du chromosome Philadelphie (133).

- soit une anomalie constitutionnelle susceptible de prédisposer l'animal à un hématosarcome confortant les découvertes sur la leucose canine (6), (11), (35), (74).

De la première anomalie, la littérature nous avait averti que nous ne trouverions trace. Nos plus grands espoirs résidaient dans le deuxième objectif, confiant à la pensée que GUSTAVSSON l'avait déjà atteint (67), ici aussi nous avons été déçus .

Toutefois, nos expérimentations auront été utiles dans la mesure où elles nous ont permis de confirmer :

- qu'indéniablement, la leucose bovine est marquée dans sa phase ultime par d'importantes modifications chromosomiques des lymphocytes sanguins.

- que ces modifications concernent également le nombre que la structure des chromosomes,

- que le chromosome X joue un rôle essentiel : souvent il es fracturé, parfois il est absent.

En outre, nous avons pu constater :

- que dans la forme juvénile, malgré l'absence d'anticorps témoins de la présence du virus, la proportion d'aneuploïdie et de fracture est fort importante,

- que dans le taureau porteur du virus sans développement tumoral, en revanche, si le taux d'aneuploïdie semble élevé, l'importance des fractures rejoint celle d'un animal témoin.

Il est dommage que nous n'ayons pu contrôler ces données sur la moelle osseuse d'une part et sur des animaux pareillement atteints d'autre part car cela signifierait que les fractures sont caractéristiques du développement tumoral final mais non de la présence du virus.

Ceci, restant le point le plus intéressant de notre expérimentation, doit quand même être entouré des précautions d'usage car si le virus n'est pas responsable directement du développement tumoral, celui-ci est dû à la prolifération anarchique des lymphocytes cancéreux dont le virus, ici est l'initiateur. Il est donc difficile de ne pas lier les deux termes, même si l'étiologie virale de la leucose juvénile n'a pas été démontrée (142).

Si nous pouvons ensuite confirmer certains détails bien précis comme la présence de P C C jamais décrite au préalable dans notre laboratoire, d'autres hypothèses resteront en suspens : nous avons noté un faible pourcentage de polyploïdie; nous n'avons pas noté comme BIRBIN (15) que " le degré d'hyperploïdie variait avec le processus dynamique de la leucémie ".

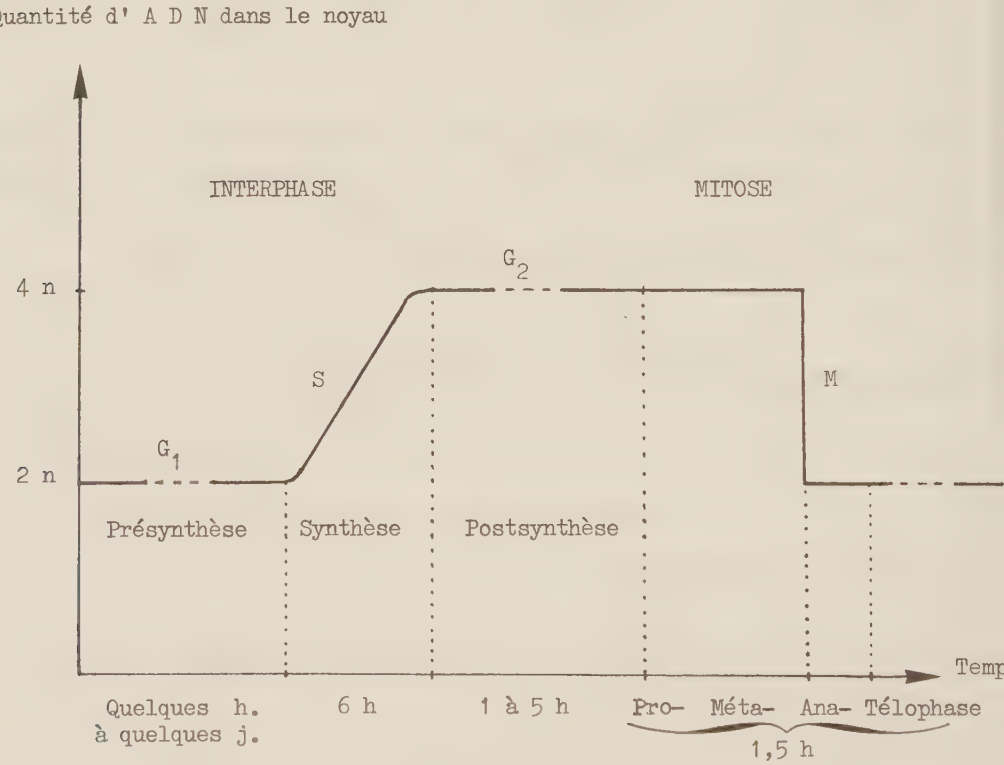
Un autre point original que nous avons pu constater dans nos images de fracture, c'est que :

1 : les cassures intéressent toujours les deux chromatides

2 : sur ces éléments et sur deux chromosomes différents, elles se produisent au même endroit.

Il suffit pour cela de contempler les images de cassure recueillies dans la photo 10.

Le mécanisme qui aboutit aux remaniements de structure observés dans les cellules cancéreuses n'est pas connu. Nous savons cependant que la synthèse d'A D N indispensable pour doubler le stock de chromosomes nécessaires à la mitose s'effectue en interphase (phase S sur schéma 3). Pour intéresser les 2 chromatides, les cassures doivent donc s'être produites lorsque le leucocyte est en phase G 1, c'est à dire in vivo, avant la mise en culture. En revanche les cassures simples, seules peuvent se produire pendant le temps de culture in vitro(30). Comme nous n'avons pas observé de ces dernières, nous mettons hors de cause notre technique de culture.



SCHEMA 3 : VARIATION DANS LE TEMPS DU STOCK D' A D N CELLULAIRE
D'après ARNAUD (2)

En outre, les techniques de bande R ont permis de préciser (3) que les cassures et les échanges s'effectuaient non pas au hasard, mais préférentiellement sur les zones d'interbande. Or en phase G 1 où se produisent donc les fractures, la chromatine est déroulée sauf dans ces zones d'interbande métaphasique qui correspondraient donc à l'hétérochromatine. Ainsi l'hétérochromatine, qui est constituée de séquences répétitives d' A D N , pourrait jouer un rôle important dans le mécanisme de restructuration en servant de lien entre des segments de chromatine différents. Voilà ce que AYRAUD (3) a avancé en 1975 pour les remaniements chromosomiques humains. L'extrapolation aux chromosomes bovins ne demanderait qu'un pas. Nous en franchirons d'autres en comparant, dans le chapitre suivant, nos données sur la leucose bovine et l'état actuel des travaux en cytogénétique, virologie et cancérologie humaine et expérimentale.

-:-

CHAPITRE TROISIEME

CHROMOSOMES, VIRUS et CANCER

Une étude s'arrêtant à de simples constatations n'aurait guère d'intérêt si elle ne permettait ensuite de retrouver les analyses et les hypothèses de Ludwig GROSS (56), de Jean de GROUCHY (57) et de tant de chercheurs qui essayent aujourd'hui encore d'ordonner l'imbroglio formé par la trilogie " virus, chromosomes et cancer ", peut-être d'ailleurs devrions-nous dire virus, cancer et chromosomes ?.

Aussi, après avoir tiré les conclusions de plusieurs années de recherche en cytogénétique expérimentale ou appliquée, nous nous efforcerons de détailler les mécanismes de la cancérogénèse virale.

-:-

A - CHROMOSOMES et CANCER

Même si certains néoplasmes ne s'accompagnent pas aujourd'hui d'anomalies chromosomiques (22), ce qui pourrait tout simplement refléter une déficience de nos moyens d'observation, il nous a tout de même été permis de décrire un nombre impressionnant d'anomalies chromosomiques au cours de l'évolution des sarcomes et des leucémies (130).

De l'observation d'une certaine progression dans le temps de ces anomalies au cours d'un processus malin, les cliniciens ont tiré des applications pratiques en médecine humaine et les théoriciens ont essayé de répondre au grand dilemne : l'anomalie chromosomique est-elle la cause ou la conséquence du cancer ?

1 - Evolution clonale des anomalies

Beaucoup d'anomalies de structure sont instables et disparaissent rapidement au cours des multiplications cellulaires (cassures, lacunes, anneaux, échanges par exemple) (197).

Certaines sont stables ; elles sont présentes dans plusieurs métaphases d'un même examen et à plusieurs examens successifs réalisés sur le même sujet. Elles constituent alors des marqueurs (isochromosome, translocation réciproque, inversion péricentrique, délétion par exemple).

Leur mode évolutif peut alors prendre une allure toute particulière dans laquelle des anomalies successives vont s'ajouter à la première. Cela crée une instabilité croissante favorisant elle-même la survenue d'anomalies supplémentaires dans les générations cellulaires suivantes (152).

Cette évolution chromosomique séquentielle a été décrite et définie par LEJEUNE (1963) (95), sous le terme d' "évolution clonale" ; elle est particulièrement fréquente dans les leucémies.

PEDERSEN (144), propose une hypothèse pour son explication : la non élimination ou la sélection progressive des clones anormaux.

Ils seraient favorisés par l'environnement leucémique, peut-être par l'intermédiaire de transformations cellulaires successives qui rendraient cette population mieux adaptée à son milieu et ainsi résistante aux processus de destruction normaux .

La notion d'évolution clonale a été confirmée par de nombreux auteurs ; de GROUCHY et de NAVA (58) l'ont particulièrement bien étudiée dans la L M C dès 1966. Elle évolue tout d'abord selon une phase chronique ou " prémaligne " qui est entrecoupée de crises " d'acutisation " ou crises blastiques. Elles cèdent au traitement jusqu'au moment où la transformation blastique définitive survient et la maladie entre dans la phase aigüe ou leucémie myéloïde aigüe. Ce sont les"évolutions clonales " des anomalies chromosomiques qui accompagnent et même précèdent cette progression de la maladie.

Elles procèdent par pertes ou acquisitions successives de chromosomes particuliers ou encore par remaniements de structure et obéissent à un certain nombre de modèles précis définis par ces mêmes auteurs en 1966 (58) :

1 - Duplication du chromosome P h^1

2 - Acquisition d'un chromosome surnuméraire.

3 - Acquisition puis duplication de plusieurs chromosomes surnuméraires.

4 - Hypoploïdie par perte d'un chromosome

5 - Perte et acquisition associées de chromosomes

6 - Remaniements de structure autres que P h^1

7 - Polyploïdie de cellules aneuploïdes.

Si ce processus évolutif est bien connu pour le L M C, il est plus difficile à étudier pour les autres formes de cancer. De GROUCHY (57) pense néanmoins que toutes les formes de malignité obéissent aux mêmes lois. De même que le chromosome P h^1 est propre à la L M C, grâce aux techniques de marquage, les cytogénéticiens humains sont en train de démontrer que chaque cancer, s'il ne possède " son chromosome de Philadelphie ", renferme au moins " un variant commun " qui lui est propre. Nous avons cité dans la première partie de ce travail les exemples les plus marquants choisis dans les tumeurs solides (méningiomes et rétinoblastomes) mais surtout dans les hémopathies malignes (leucémies aigües à promyélocytes, lymphome de BURKITT ...).

La régularité de l'évolution clonale de ces anomalies a donc tout particulièrement intéressé les thérapeutes.

2 - Intérêt pratique de la cytogénétique dans l'étude des hémopathies

Le Canadien CADOTTE en 1979 (22) a défini les objectifs que devrait permettre d'atteindre l'analyse cytogénétique :

" Lors de certaines maladies nébuleuses, telles l'anémie réfractaire, la présence d'une anomalie chromosomique pourrait identifier un sous-groupe de patients. De plus un caryotype anormal chez un malade ayant quelques signes de leucémie aigüe, permet de porter un diagnostic plus tôt.

Enfin dans la L.M.C et probablement dans d'autres types de leucémie aigüe, l'analyse chromosomique fournit un indice pronostique de la réponse thérapeutique et renseigne sur l'évolution clinique. Donc le but est triple : nosographique, diagnostique et pronostique. "

Ainsi, continue-t-il, l'aneuploïdie accompagne près de 50 % des cas de leucémie aigüe. Dans près de la moitié des cas il s'agit d'une hyperploïdie, le quart présentant une hypoploïdie et l'autre quart comprenant l'ensemble des cas dont le nombre de chromosomes est pseudodiploïde : hyper, hypo et pseudodiploïdie, établissent un pronostic. ROWLEY (161) (162), affirme en effet que les malades diploïdes ou hyperploïdes atteints de leucémie aigüe survivent en moyenne 49 semaines. La pseudodiploïdie établit,elle, un pronostic de 36 semaines de survie et l'hypoploïdie 13 semaines seulement. Qu'il est regrettable que nos bovins leucosiques voués à l'abattoir à brève échéance ne nous aient permis d'établir de tels pronostics !.

En outre, ce même auteur observe en l'absence d'anomalie chromosomique une rémission à la suite du traitement chez plus de 80 % des malades atteints de leucémie myéloïde aigüe. Ce pourcentage s'abaisse à 20 s'il existe une quelconque anomalie chromosomique sur les cellules leucémiques et si, à la suite du traitement, une disparition de l'aneuploïdie ou de la pseudodiploïdie se produit, elle annonce une réponse favorable.

CADOTTE préconise également une étude chromosomique lors des états pré-leucémiques comme les syndromes myéloprolifératifs, les anémies réfractaires, les leucopénies ou les pancytopénies. Il a été décelé (ROWLEY, 1976), (161), en effet, dans ces cas-là,une trisomie 8, une délétion des grands bras d'un chromosome 5, d'un chromosome 20 ou un isochromosome 17. Ces entités s'accompagnent parfois de trisomie ou de monosomie des chromosomes F, E ou D.

A la seule vue de ces anomalies, les médecins se gardent bien de conclure hâtivement à une leucémie : selon NOWELL (132), si un malade atteint d'hémopathie, associée à une aneuploïdie, n'a pas développé de leucémie au bout de 3 mois, les risques en sont alors diminués ; certains rallongent cette période à une année. En revanche, la plupart des malades atteints d'un syndrome myéloprolifératif ou d'une anémie réfractaire qui possèdent une anomalie chromosomique, développent une leucémie en moins de 3 mois.

Voilà quelques constatations qui peuvent enrichir le bagage thérapeutique du médecin ; espérons qu'un jour les vétérinaires pourront travailler sur le même modèle. Il faudrait pour cela, répétons-le que les investigations cytogénétiques soient systématisées en cancérologie animale. Peut-être, alors, pourrions-nous aider les médecins à répondre à une interrogation déjà posée par BOVERI en 1914 (17) :

" Les anomalies chromosomiques observées dans les cellules cancéreuses sont-elles la cause ou la conséquence du processus malin ? "

3 - Anomalie chromosomique : Cause ou conséquence du Cancer ?

Nul ne propose de solution définitive et beaucoup, à l'image d'ENGEL (45) en 1977, se contentent, à travers leurs observations, de nous inciter à tenir compte des faits suivants :

1 - Des leucémies en apparence très proches, peuvent s'accompagner ou non d'anomalies cytogénétiques sans qu'on puisse donner la raison de cette différence majeure.

2 - La même apparente anomalie cytogénétique peut accompagner une condition maligne ou non :

3 - Une même lésion chromosomique s'observe dans des lignées cellulaires de destinées différentes.

4 - Dans certains cas, un simple échange entre chromosomes apparaît, dans d'autres exemples, duplications et délétions multiples s'imposent d'emblée ou prennent la relève.

Pourtant, cette infinie variété semble bien contre-dite par un fait que de nombreux scientifiques ont noté (MITELMAN et LEVAN, 1976, (120) (121), ROWLEY, 1975 (160), de GROUCHY 1978, (57), et même LUNGEANU, 1978 (105) pour la L.B) : les lésions semblent intéresser préférentiellement certains chromosomes. Et l'on découvre finalement que toute la carcinogénèse tourne autour d'un petit nombre de chromosomes : le 7, le 8, le 9, le 13, le 14, le 17, le 20, le 21 et le 22 dans l'espèce humaine suivant les auteurs, le 24, le 27, le 29 et le X concernant la leucose des bovins. Et pour de GROUCHY (57), reprenant les suggestions de BOVERI, " ces chromosomes doivent porter les gènes importants étroitement liés à la croissance et aux interactions cellulaires ". Nous verrons quelles conclusions seront à en tirer concernant les sites d'intégration des virus oncogènes sur les chromosomes des cellules hôte ; en effet, BOVERI (17) n'avait-il pas aussi suggéré que, si l'anomalie chromosomique est à l'origine du cancer, elle peut être également provoquée par de nombreux facteurs ? . Elle constituerait ainsi la voie d'abord commune de tous les facteurs cancérigènes et deviendrait réellement le début du processus malin.

N'oublions pas en effet, que chaque fois qu'une cellule se divise, elle court le risque de voir survenir une anomalie chromosomique, éventualité estimée à 2 ou 3 % des divisions, créant ainsi ce que de GROUCHY nomme un " fonds permanent " de remaniements chromosomiques (57).

De nombreux facteurs peuvent accroître ce fonds permanent. Les facteurs internes : vieillissement ou maladies dont beaucoup sont héréditaires et s'accompagnent d'un taux élevé de cassures chromosomiques ainsi que d'un risque important de voir se développer un cancer. Tel est le cas de l'anémie de FANCONI (160), véritable " pancytopémie " touchant les lignées rouges comme les blanches et dont les malades meurent souvent de leucémie. C'est aussi le cas du syndrome de BLOOM, (160), nanisme fréquent chez les Juifs s'accompagnant de photo-sensibilisation cutanée et dont encore les malades succombent de leucémies ou de cancers cutanés. Egalement la polypose du colon ; le xéroderma pigmentosum (57), aussi montrant des lésions cutanées sur les régions du corps exposées au soleil et qui se transforment pratiquement toujours en cancers cutanés (il est intéressant de noter que cette affection provient d'un défaut de synthèse des enzymes responsables de la réparation de l'A D N chromatidien lorsque celui-ci est brisé par les ultra-violets ; c'est une pathologie humaine nouvelle liée à des défauts de réparation des cassures chromosomiques).

Les facteurs externes sont les plus anciennement connus.

Il a été clairement démontré que les rayonnements ionisants, tout particulièrement les rayons X , cassaient les chromosomes ; in vitro, les lymphocytes placés sour un tube à rayons X subissent des cassures de fréquence proportionnelle à la dose de rayons reçus (57). In vivo, nous savons que les personnes exposées à des rayonnements ionisants ont secondairement un taux élevé de cassures dans leurs lymphocytes, ceci a même été proposé à titre de " dosimètre ". Or nous savons aussi que les cancers des radiologues ont été décrits depuis longtemps ; peut-on également oublier que les survivants aux explosions atomiques d'HIROSHIMA et de NAGASAKI succombent encore aujourd'hui de leucémies ou de cancers après avoir reçu des doses de rayons ionisants non immédiatement mortelles ?

De même, certaines substances chimiques cancérigènes, telles que les goudrons, les benzènes, les benzopyrènes, le méthyl de mercure,

le triméthyl phosphate, le L.S.D, le cyclophosphamide, ... sont susceptibles de provoquer des cassures et des remaniements chromosomiques.

Les Virus enfin, point d'aboutissement de notre démonstration, que LEVAN (100), ainsi que HAMPAR et ELLISON (69), accusèrent les premiers en 1961 d'engendrer des altérations chromosomiques de type divers Cela a bien évidemment été rapproché du fait que certains étaient responsables de carcinogénèse et que les perturbations chromosomiques étaient bien établies dans le cancer.

Ainsi NICHOLS en 1963 (131) note que le virus du sarcome de ROUS (volaille) s'accompagne d'aberrations chromosomiques d'autant plus importantes que la tumeur est plus prolifération.

STICH et VAN OOSIERen 1964 (174) constatent même l'apparition d'aberrations chromosomiques sur des fibroblastes de Hamster de Chine sous l'action de l'Adénovirus humain de type 12. Les lésions touchent à la fois chromosomes et chromatide : ce sont des échanges interchromatidiens, chromosomiques et des cassures dont le maximum apparaît à la quarante-huitième heure.

A l'inverse, en 1963, MOORHEAD et SAKSELA (124) décrivent les anomalies chromosomiques de cellules humaines cultivées en présence du Simian Virus 40, quarantième virus isolé chez les singes. Onze années plus tard, CROCE et KOPROWSKI (32), réussissent à localiser l'A D N du SV 40 sur le chromosome 7 de ces cellules, sans éloigner toutefois l'éventualité de localisation sur d'autres chromosomes. Alors, si des sites d'intégration, de localisation préférentielle sur les chromosomes sont reconnus à chaque virus oncogène, quel regain d'intérêt pour la cytogénétique des tumeurs !

De nouvelles hypothèses sont forgées : n'y aurait-il pas, par exemple, de corrélation entre la rétention du chromosome 7 dans les cellules humaines transformées par le virus SV 40 in vitro et la perte in vivo apparemment préférentielle du chromosome 7 dans les désordres myéloprolifératifs ?

De la même façon, depuis les travaux de MC DOUGALL et COLL. en 1974 (113), il est reconnu que l'adénovirus humain de type 12 produit une lésion sur le chromosome 17 au niveau du locus du gène responsable de la thymidine kinase dont le virus a un besoin indispensable pour sa propre synthèse. Ces phénomènes peuvent alors aider à élucider la spécificité des anomalies chromosomiques : l'implication préférentielle du chromosome 17 est évidente dans la L.M.C. et il est possible de spéculer qu'une telle spécificité peut être due à la nécessité d'un gène particulier à un moment précis du développement de cette leucémie (DE GROUCHY et TURLEAU, 1974) (61).

Les faits malheureusement ne semblent pas aussi simples dans beaucoup d'autres cas et notamment dans la L.B. KETTMAN et COLL. en 1980 à Paris (85) ont essayé de localiser le site d'intégration du B.L.V. dans le génome de 3 bovins. Et s'il s'est avéré que celui-ci ne prenait pas place au hasard sur les chromosomes, les segments spécifiques, en revanche, ont montré qu'ils pouvaient différer d'un animal à un autre ou suivant la lignée cellulaire d'un même animal. Ils ont toutefois noté qu'une seule copie d'ADN proviral, était intégrée par génome laploïde et ils ont donc rapproché cette diversité d'intégration aux six mutants viraux décrits avec eux par des Japonais.

Voilà qui nous amène à aborder dans les détails les mécanismes d'intégration et de réplication des virus dans les cellules qu'ils infectent : la carcinogénèse virale.

B - VIRUS ET CANCER

Malgré BORREL(16) qui,en 1903, énonça le premier l'hypothèse virale du cancer, ELLERMAN et BANG en 1908 (44), ROUS en 1911, (158), il fallut attendre 1951 pour que cette hypothèse soit vérifiée de manière concrète. Cette année là, en effet, Ludwig GROSS démontra l'étiologie virale d'une leucémie spontanée chez les souris de la lignée A K R (54) et établit la transmissibilité verticale de ce virus (55).

Dès lors, une recherche intense se préoccupa des virus cancérigènes et la microscopie électronique permit de mettre en évidence des virions typiques dans de nombreuses tumeurs animales. Ainsi en 1969, MILLER et COLL.(117) décrivirent ces particules dans les cultures à court terme de lymphocytes de bovins atteints de lymphosarcome après stimulation à la phytohémagglutinine (PHA). Cela fut souvent confirmé par la suite et l'origine virale ne fait donc plus aucun doute aujourd'hui (PARODI, 1977) (142).

Nous tâcherons donc, dans cette partie de notre exposé, à l'aide des exemples classiquement choisis dans la littérature scientifique, d'expliquer la génétique de la cancérogénèse virale et de l'extrapoler à la leucose bovine.

1 - Le virus de la Leucose Bovine (B L V)

Les virus oncogènes se retrouvent aussi bien dans les familles de virus à A D N (Desoxyvirus) que dans celles de virus à A R N (Ribovirus).

Le B L V fait partie de ce dernier groupe : c'est un Oncornavirus ou Rétrovirus de type C, leucémogène, ou encore Leukovirus.

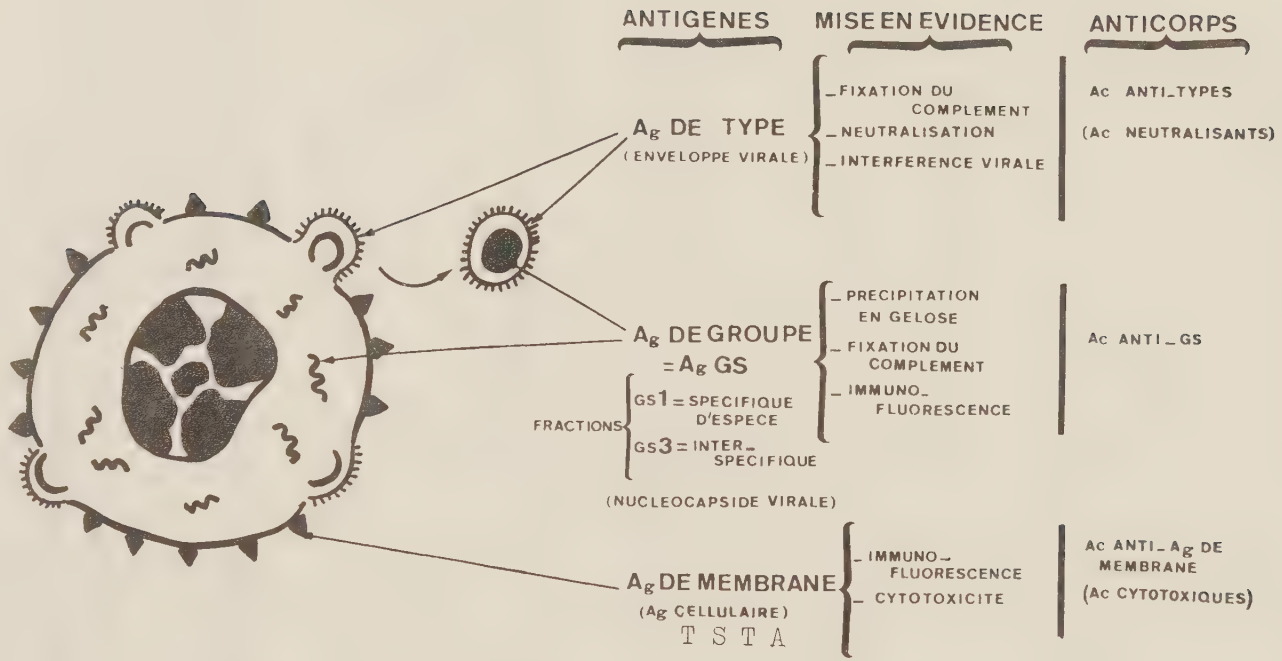
Nous savons que tout virus est fait d'une enveloppe facultative, d'une capside enfermant un matériel génétique ou nucléoïde à base d'A D N ou d'A R N. La morphologie du B L V se caractérise par (23) (117) (164) :

- un diamètre de 90 à 120 mm
- un nucléoïde central de 60 à 70 S (degré SVEDBERG) dense aux élections
- un espace clair séparant le nucléoïde de l'enveloppe
- une enveloppe irrégulièrement sphérique hérissée de courts spicules
- une symétrie hélicoïdale.

Immunologiquement, les oncornavirus sont caractérisés par 3 types d'anti-gènes, 2 Ag viraux et 1 cellulaire (23) (198) :

- Ag de type : situés sur l'enveloppe virale, ils sont différents selon la souche de virus identifiée
- Ag de groupe (Ag G.S.) : c'est la nucléocapside virale commune à l'ensemble des virus d'une même espèce
- Ag de Membrane (T S T A) : c'est l'antigène cellulaire apparaissant après l'infection et spécifique du virus infectant.

Ces Ag sont souvent utilisés en vue de l'identification sérologique du virus responsable d'une infection. Le schéma 4 présente également les anti-corps correspondants.



SCHEMA 4 : IMMUNOLOGIE DES ONCORNAVIRUS, (d'après WYERS) (198)

2 - Réplication et transmission du virus

a) Les Désoxyvirus

Depuis longtemps était connue l'intégration de l'A D N des bactériophages dans le génome des bactéries qu'ils parasitaient. Beaucoup rapprochaient déjà d'ailleurs ce mécanisme de l'action des virus cancérigènes sur les cellules contaminées.

Ainsi en 1967, DULBECCO et WESTPHAL (191) après avoir isolé in vitro des A R N transcrits à partir de l'A D N d'un désoxyvirus, le SV 40, décident de pratiquer l'hybridation moléculaire entre ces A R N marqués à l'uridine tritiée et l'A D N des cellules transformées par ce virus. Devant la réussite de cette opération, ils concluent à l'existence de 16 à 60 copies du génome viral par cellule transformée. Cela a par la suite été reproduit avec d'autres Adénovirus qui ont toujours montré que plusieurs copies d'A D N viral étaient ainsi intégrées à l'A D N des cellules cancérisées par le virus.

Pourtant, ce qui était envisageable pour les virus à A D N était plus difficile à concevoir pour ceux renfermant de l'A R N.

Dans la mesure où le patrimoine génétique des espèces animales est toujours constitué d'A D N, plus d'un se demandait comment les virus à A R N pouvaient bien s'y intégrer.

La réponse fut apportée en 1970 par TEMIN (178) et BALTIMORE (4).

b) Les Ribovirus

α : Isolement de la Réverse transcriptase

En étudiant l'infection cellulaire par le virus du sarcome de ROUS sur des poulets, TEMIN observe qu'en inhibant la synthèse d'ADN

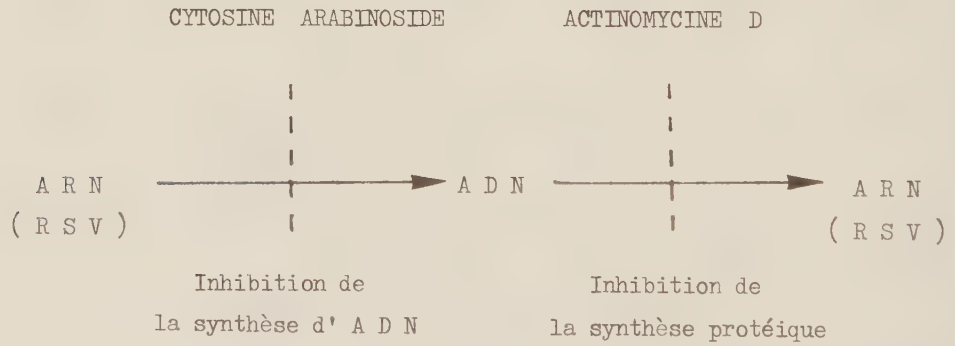
dans la cellule par la Cytosine A rabinoside (C A), il bloque la production de virus à condition d'intervenir dans les 8 heures suivant l'infection virale. Passé ce délai, la C A est sans effet mais on peut encore empêcher la production virale en bloquant la transcription de l'A D N cellulaire par l'actinomycine D.

De cela, il conclue donc :

- que l'A R N viral doit passer par l'intermédiaire d'un A D N,

- que la synthèse de cet A D N n'est nécessaire qu'en début de l'"infection " virale,

- que plus tard, la transcription de l'A D N en A R N messagers est nécessaire à la production de virus.



SCHEMA 5 : REPLICATION DU VIRUS DU SARCOME DE ROUS
d'après TEMIN, 1970 (178)

Ces faits on conduit TEMIN, puis BALTIMORE (1970) à émettre l'hypothèse que l'A R N viral devait coder une réplique d'A D N (ou Provirus) qui s'intégrait à l'A D N cellulaire conformément à ce qui avait été vu pour les désoxyribus oncogènes. Cependant on était persuadé jusqu'alors que la transcription ne pouvait s'effectuer que dans le sens A D N → A R N. La vérification de l'hypothèse nécessitait donc la mise en évidence d'une enzyme D N A polymérase R N A dépendante.

Elle fut découverte par TEMIN, BALTIMORE et SPIEGELMAN (171) (1970-1972) qui la nommèrent " Reverse transcriptase" (R.T), la Transcriptase inverse.

Par la suite, les techniques d'hybridation moléculaire ont montré la présence, dans les cellules transformées par les oncornavirus, de molécules d'A D N ayant une homologie totale avec l'A R N viral marqué à l'uridine tritiée, alors qu'il n'existe aucune homologie entre cet A R N viral et l'A D N d'une cellule normale.

De plus, ces particules d'A D N (bicaténaire) ont été identifiées en microscopie électronique et, surtout, on a montré qu'elles étaient capables de provoquer l'apparition de virus et la transformation cellulaire lorsqu'on les transportait dans une cellule normale.

La présence de la R.T. a été démontrée chez tous les Oncornavirus. Elle est localisée sur le nucléoïde du virion. Son mode d'action est même assez bien connu, tout au moins en ce qui concerne le R.S.V. Celle du virus de la leucose bovine (B L V) semble toutefois différer des autres par le fait que son activité est d'autant plus stimulée in vitro que le milieu est plus riche en ions Mg^{++} (KETTMAN et COLL.; 1976), (86).

β : Réplication des Oncornavirus

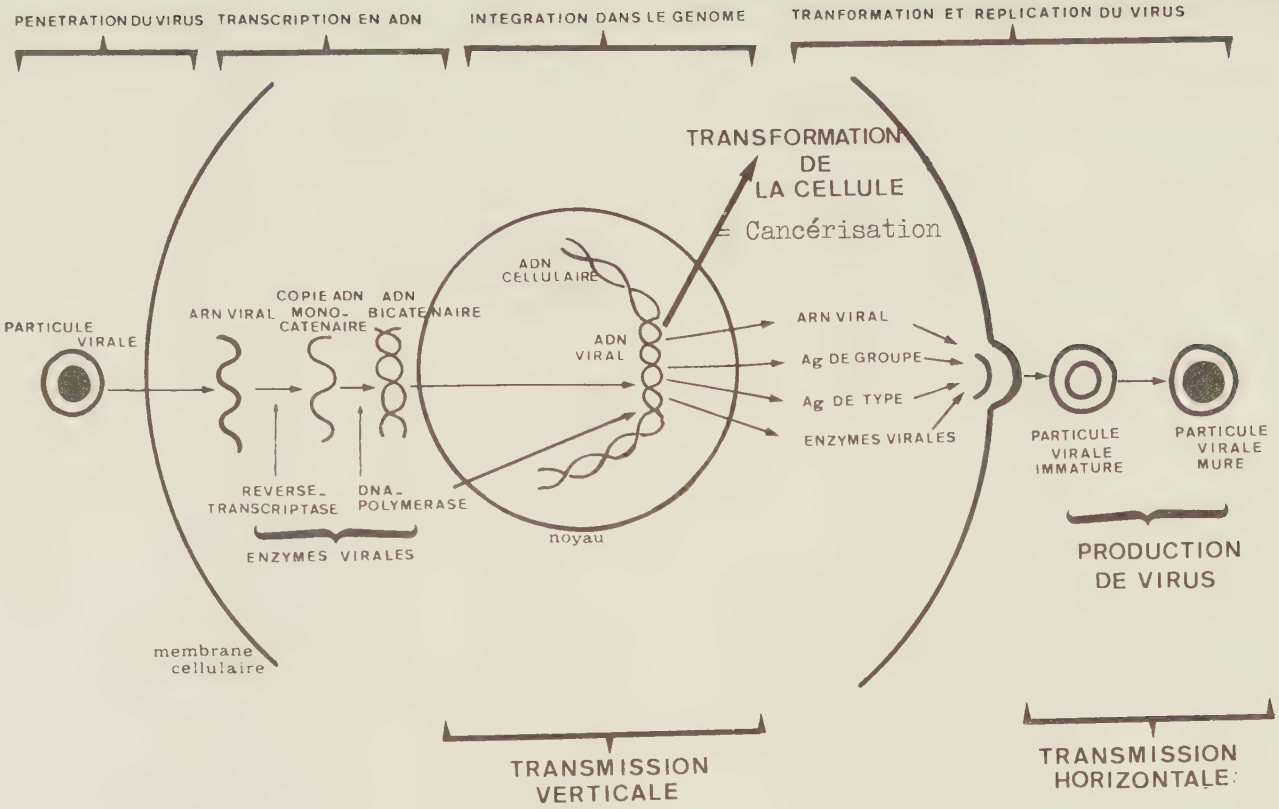
Une fois l'intégration comprise, les auteurs purent alors décrire la réplication et la transmission et construire ainsi le mécanisme complet selon la théorie dite du Provirus illustrée par le schéma 6 de la page suivante d'après WYERS. Il peut être résumé ainsi : la pénétration de la particule virale dans une cellule sensible est suivie de la décapsidation et de la libération de son A R N. Sous l'action d'une enzyme spécifique du virus, la Reverse Transcriptase, l'A R N viral est transcrit en une copie d'A D N monocaténaire transformée à son tour en A D N bicaténaire grâce à une autre enzyme virale A D N polymérase A D N dépendante.

Cette copie d'A D N bicaténaire ou Provirus ou c D N A est ensuite entièrement intégrée dans le génome de la cellule par l'intervention d'endonucléases et de ligases également d'origine virale.

Une fois le Provirus incorporé à l'A D N cellulaire, plusieurs éventualités se présentent alors :

1 - l'infection cellulaire : L' A D N proviral ainsi intégré au génome cellulaire se duplique en même temps que lui. Sans transformation ni production virale, la cellule transmet ainsi l'information génétique aux cellules issues de sa division : on parle de transmission verticale où le génome viral reste latent. Et c'est seulement sous l'influence de facteurs extrinsèques que ce provirus peut s'activer au bout de plusieurs mois ou de quelques années.

2 - la production virale : l'A D N proviral est alors transcrit en A R N et en protéines virales qui s'assemblent dans la membrane cellulaire. La cellule produit alors du virus par bourgeonnement à la surface de sa membrane et assure ainsi la transmission horizontale, sans pour autant subir forcément une transformation : la cellule est dite permissive et on parle de virogénie.



SCHEMA 6 : REPLICATION ET TRANSMISSION DES ONCORNAVIRUS (d'après WYERS) (198)

3 - la transformation cellulaire : l'information génétique nécessaire à la transformation induit la cancérisation de la cellule sans pour autant produire obligatoirement des particules virales : si ce n'est pas le cas, on parle de cellule non permissive et d'avirogénie.

L'avirogénie peut aisément devenir virogénie si elle est soumise à différentes méthodes d'induction de la virogénie in vitro (surinfection virale, agents physiques ou chimiques ...) mais aussi in vivo (irradation, inoculation de cellules tumorales ...) (198). Nous verrons l'intérêt de cette dernière méthode. La Phytohémagglutinine (P H A), la Concanavaline A (Con-A) et la 5 - Bromodésoxy uridine (B u d R) ont été utilisées comme agents chimiques in vitro pour révéler la présence du B.L.V. dans les cultures effectuées à partir de cellules leucémiques de bovin.

γ : La transmission du Bovine Leukaemia Virus

Les nombreuses expériences d'inoculation de matériel virulent (sang, colostrum, lait, extraits tumoraux) par injection au veau (142), ont montré que la transmission horizontale du B.L.V était possible (118). De nombreuses observations l'ont d'ailleurs confirmé : la transmission par contact semble certaine (198).

La transmission épigénique semble également jouer un rôle important. Si l'infection in utéro ou le " contage " à la naissance semblent peu fréquents, le lait quant à lui joue un rôle de vecteur du B L V indéniable, soit directement en transmettant le virus (DUTCHER et COLL.(42) ayant depuis longtemps (1965) observé des particules virales dans le lait) soit plus certainement par l'intermédiaire des cellules qu'il contient (48) (FERRER et THURMOND, 1980).

Le mode vertical de transmission à la descendance semble aujourd'hui encore bien peu probable. Il n'est que relater les échecs de BURNY et COLL.(21), dans leurs tentatives à mettre en évidence des séquences d'A D N homologues à l'A R N viral dans le génome de cellules non tumorales de bovins atteints de lymphosarcome. Cela rend bien peu crédible l'hypothèse d'un provirus intégré aux gamètes des animaux infectés.

Il est pourtant certain que l'hérédité joue un grand rôle dans la transmission de la maladie : les enquêtes épidémiologiques effectuées en U.R.S.S.par ERNST et COLL.(47) et par tant d'autres vétérinaires ont montré l'influence indiscutable de l'hérédité parentale sur la résistance des produits de malades à la leucose bovine, sans pour autant prouver l'existence d'un monogène à caractère dominant. SHADMANOV et COLL.en 1976 (168) ont même noté un lien certain entre la possession d'allèles de groupes sanguins bien particuliers (L, Z, B C_3 O_3 Y_2 O' et Y_2 E' I') et la prédisposition à la maladie.

Nous savons d'ailleurs que les races laitières sont beaucoup plus sensibles que les races à viande et que la maladie survient presque exclusivement sur les adultes (99 de ces après 2 ans et 90 % après 5 ans) (1) et (10) : le génome viral intégré, nous l'avons vu, dès le plus jeune âge dans le patrimoine génétique de l'animal est hautement réprimé pendant une grande partie de son existence et ne se réveille qu'à la faveur de certaines conditions bien déterminées (141).

Alors si le génome viral lui-même n'est pas transmis à la descendance, quel est le matériel génétique qui se retrouve de générations en générations ?

3 - le déterminisme génétique du pouvoir cancérigène

a) La théorie de HUEBNER

Les travaux de cet Américain sur la leucémie des souris due au virus de MOLONEY (MoLV), nous serviront de modèle d'étude.

En 1972, il constate avec TODARO (180) que les souches A K R présentent une proportion de lymphosarcome supérieure à celle des autres souris. Il spécule donc que les souris, et même la plupart des vertébrés, contiennent des génomes d'Oncarnavirus intégrés à leur patrimoine génétique et qui se transmettent automatiquement à la descendance par l'intermédiaire des cellules germinales. Cela, nous l'avons vu, n'a pu être démontré pour le B.L.V.(21).

Mais il continue en expliquant que ces génomes viraux restent la plupart du temps occultes car sous la dépendance d'un gène régulateur répresseur et ils ne pourraient se manifester que par le jeu de facteurs extrinsèques ou intrinsèques dits " facteurs dérépreusseurs " inhibant le gène régulateur . (Comment ne pas songer aux facteurs capables d'accroître le " fonds permanent " des remaniement chromosomiques dont parle de GROUCHY (57) et à ceux qui peuvent induire la virogénie ? (198).)

Comme la transformation de la cellule et la production de particules virales sont souvent dissociées, HUEBNER suggère l'existence de deux gènes distincts et à caractère dominant : le virogène responsable de la réplication et de la libération du virus et l'Oncogène commandant la transformation tumorale de la cellule, ces deux fractions pouvant être suivant les individus déréprimées conjointement ou séparément.

Cette théorie est maintenant admise et elle a été reprise pour décrire d'autres gènes intervenant à différents niveaux dans

l'expression du Virogène et de l'Oncogène (28).

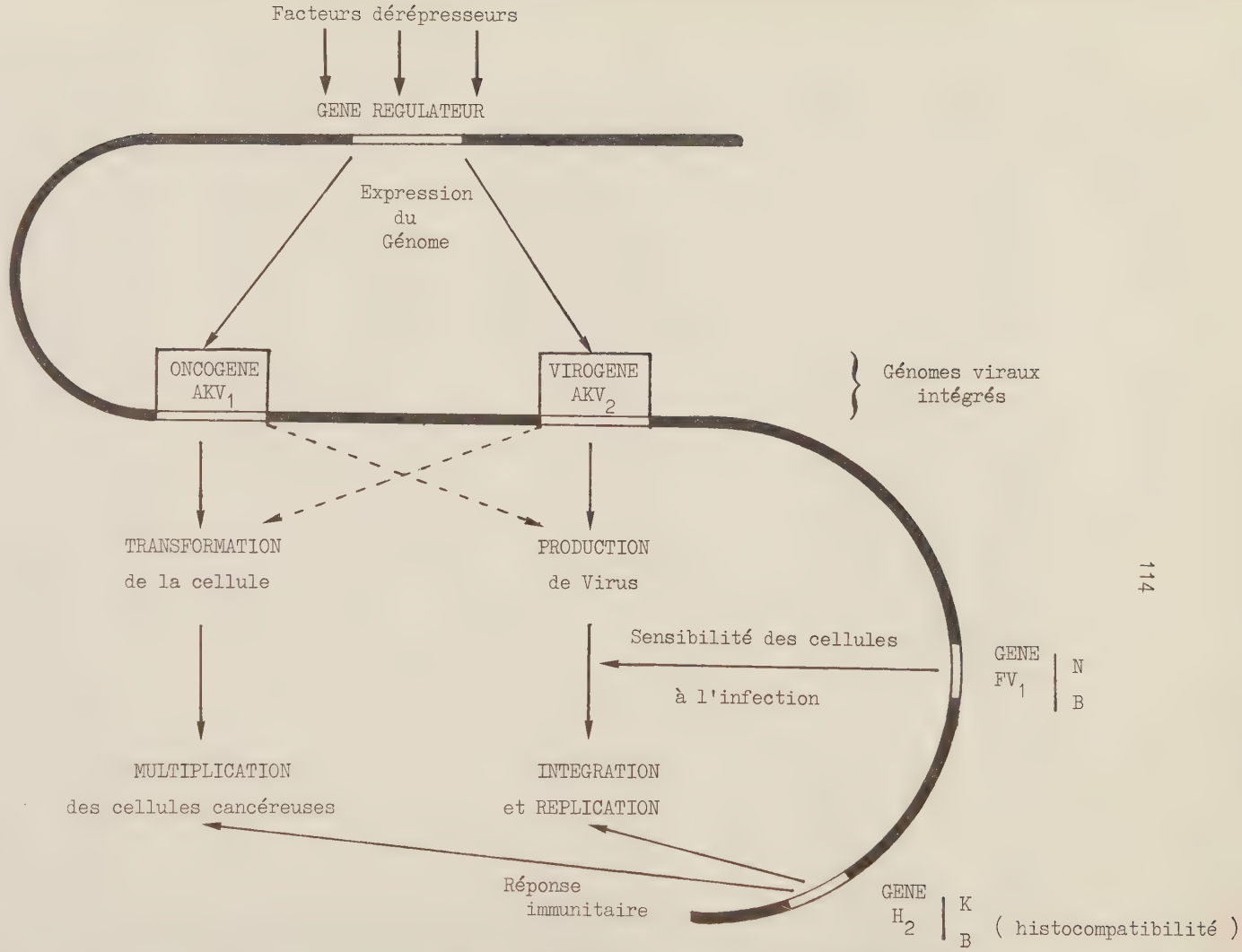
Le gène FV_1 décrit sur la souris par LILLY et PINCUS en 1973 (102), intervient dans l'intégration et la réplication du virus produit ; il détermine la sensibilité des cellules à l'infection par ce virus et la résistance à l'infection par un virus de type génétique différent. On parle ainsi de tropisme ou de virus du type N (infection des souris de race SWISS), du type B (souris BAL/ C) et du type NB (toutes les souris étant sensibles à ce dernier type de virus).

Un autre gène situé sur le même groupe de linkage que le locus d'histocompatibilité H_2 est en relation avec la sensibilité ou la résistance aux tumeurs, ce dernier caractère étant dominant (62). Il est lié à l'intensité des réponses immunitaires : " b " si elles sont fréquentes et précoces, " K " si elles sont faibles. Ainsi les souris A K R sont H_2 K Ce gène est plus généralement décrit dans toutes les espèces. Ceci a inspiré le schéma 7 de la page suivante d'après WYERS (199).

b) Notion de virus endogène

A ce niveau de notre exposé, il est intéressant d'introduire cette nouvelle notion apportée par les travaux de MC ALLISTER et COLL. en 1971 (112).

Il inocule in utero à des chatons des cellules tumorales humaines. Il obtient alors sur ces chats une culture de cellules à caryotype humain dénommée R D 114. Or ces cellules produisent en permanence un oncornavirus qui s'avère différent des virus leucémogènes et sarcomatogènes félins alors connu. Il pense alors avoir mis en évidence un virus humain le R D 114 car il réplique dans les cellules humaines et non dans celles du chat.



SCHEMA 7 : THEORIE DE HUEBNER (1972) (180)

Pourtant différentes méthodes permettent par la suite de conclure que le virus R D 114 n'est pas un virus humain mais un virus félin différent de ceux déjà rencontrés. En outre, en 1972, LIVINGSTON et TODARO (103), traitant la lignée cellulaire féline C.C.C. (Crandell Cat Cells) au Bud R, obtiennent des particules virales identiques au RD 114, ce qui en confirme l'origine féline.

Voilà les conclusions que MC ALLISTER (112) est amené à en tirer : les virus RD 114 et C.C.C sont présents dans les cellules du chat sous une forme latente et hautement réprimée, leur présence ne s'accompagnant en effet d'aucune modification morphologique et immunologique de la cellule hôte. Ils ne s'expriment qu'après un passage sur des cellules hétérologues (ou par des artifices de laboratoire).Ils sont produits par des cellules de chat mais ne poussent pas sur celles-ci. Il a donc été proposé le terme de virus ENDOGENE pour RD 114 et C.C.C, F e L V et F e S V étant dits EXOGENES en comparaison.

La présence de virus endogènes a ainsi été révélée dans les cellules normales ou tumorales de nombreuses espèces animales (poulet, souris, hamster, rat, porc, chat et babouin) (199). Il est donc permis de confirmer l'hypothèse de HUEBNER (1969, (79),) expliquant ainsi l'origine et les circonstances d'apparition des virus endogènes. Elle met en outre l'accent sur le rôle déterminant des facteurs répresseurs endocellulaires qui s'opposent la plupart du temps à l'expression du pouvoir oncogène du virus tout en permettant la transmission verticale du génome viral.

Nous pouvons également pousser la question plus avant et proposer, comme certains, que ces génomes intégrés sont les constituants normaux d'un gène cellulaire intervenant dans les phénomènes de différenciation cellulaire ou bien, comme d'autres,qu'ils ne sont que la trace paléontologique de virus intégrés il y a très longtemps aux individus d'un même

phylum (WYERS, 1980),(199). Ne retrouve-t-on pas des analogies dans les séquences d'A R N entre le virus R D 114 du chat et le M 7 du singe ?.

Enfin d'autres auteurs (HUPPERT, 1976 (80), s'appuyant sur la biochimie, et sur l'immunologie de ces virus, vont jusqu'à affirmer que les virus endogènes d'une espèce deviennent les virus exogènes des autres espèces parvenant ainsi accidentellement au contact de cellules hétérologues en devenant pathogènes.

Et l'on en arrive à toucher les limites de la recherche génétique : peut-on écarter le danger que les manipulations effectuées sur les virus endogènes ne libèrent un jour un virus exogène à l'homme ?

-:-

C O N C L U S I O N

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

Cédons, pour terminer, au plaisir de citer le Professeur LEPINE en 1967 (99) :

" Cancer et virus : ces termes sont désormais liés et nul n'en peut plus douter. Nous avons là enfin un fil conducteur pour entrer dans le labyrinthe de la cancérogénèse, chacun y trouvera, selon son humeur, un motif nouveau de crainte ou une raison supplémentaire d'espérer ".

Voilà le virus endogène, point d'aboutissement d'une théorie chromosomique de la cancérogénèse pourtant usée.

Que les facteurs carcinogènes, externes ou internes, agissent directement sur le matériel génétique " déréprimant " des virus endogènes endormis ou que les virus exogènes, tel le B.L.V., échappés d'un génome étranger, viennent s'intégrer sur des sites chromosomiques préférentiels, tout réside dans le contrôle du fonctionnement du matériel génétique.

Il n'est donc pas surprenant que l'anomalie chromosomique puisse être dans certains cas la brutale révélation d'un grave conflit cellulaire, l'irruption d'un bouleversement dans ses structures de régulation.

Sans doute, la contribution de la cytogénétique à l'étude des leucoses et des cancers ne peut être que modeste car :

1) les résultats concrets paraissent le plus souvent occasionnels.

2) les anomalies observées ne sont pas nécessairement une explication du trouble constaté mais peut-être un simple témoin.

Néanmoins les intérêts diagnostique et pronostique souvent soulignés ne peuvent que justifier la poursuite de ces enquêtes. Ainsi, l'identification des chromosomes et des sites chromosomiques les plus souvent concernés pourront permettre d'établir un rapprochement entre les fonctions des gènes sur ces sites et l'apparition ou le déroulement du processus malin.

-:-

e Rapporteur R. R. Darre

-:-

Vu : Le Directeur de l'Ecole
Vétérinaire

Professeur R. LAUTIE

: Le Président de la Thèse

Professeur GUILHEM

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Toulouse, le 30 Mars 1981.
P/ LE PRESIDENT DE L'UNIVERSITE
PAUL SABATIER, et par délégation
LE VICE-PRESIDENT,

Professeur L. LARENG

B I B L I O G R A P H I E

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

1 - ANDERSON (R.K.), SORENSEN (D.K.), PERMAN (V), SAUTTER (J.H.) :

A study of environmental factors and their relationship to the occurence of bovine lymphocytic leukemia.
68 th Ann. Proceed. US Livestock Sanit. Ass. 1965 52 - 59.

2 - ARNAUD (J) :

Cours de Cytologie
Périgueux - Prép. concours entrée E.N.V - 1976

3 - AYRAUD (N) :

Identification des remaniements chromosomiques observés dans des cellules cancéreuses humaines par marquage en bandes R
C.R. séances Soc. Biol., 1975, 169, 365

4 - BALTIMORE (D) :

RNA dependent DNA polymerase in virions of RNA tumor viruses.
Nature (London), 1970, 226, 1209 - 1211

5 - BARRAN (Marie-Claire) :

Anomalies chromosomiques constitutionnelles et anomalies hématologiques.
Thèse Méd. ; Paris-Co ; 1977 : n° 139

6 - BASRUR (P.K.), GILMAN (J.P.W.) :

Chromosomes studies in canine lymphosarcoma
Cornell Vét. , 1966, 3 , 450 - 468.

7 - BASRUR (P.K.), GILMAN (J.P.W.), Mc SHERRY (B.J.) :

Cytological observations on a bovine lymphosarcoma
Nature (London), 1964, 201, 368 - 371.

8 - BAYREUTHER (K) :

Chromosomes in primary neoplastic growth
Nature (London), 1960, 186, 6 - 9.

9 - BAYREUTHER (K), THORELL (B) :

The chromosome constitution in the virus induced chicken erythroleukemia
Exp. Cell. Res, 1956, 18, 370 - 373.

10 - BENDIXEN (H.J.) :

The manifestations of bovine leukosis in Danmark and the diagnostic nature of the hematological examinations
Bull. Off. int. Epiz., 1959, rapport n° 516.

11 - BENJAMIN (S.A.), NOROHNA (F) :

Cytogenetic studies in canine lymphosarcoma
Cornell Vet., 1967, 57 , 526.

12 - BERTRAND (M) :

Les Anomalies chromosomiques chez les Mammifères domestiques. Note 1 : Anomalies chromosomiques et pathologie extra-génitale.
Rev. Méd. vét., 1979, 130, 155 - 168.

13 - BIRBIN (S.S.) :

(Cytogenetics of bovine leucosis)
Veterinariya (Moscow), 1972, 1, 37 - 38.

14 - BIRBIN (S.S.) :

(Karyological analysis of lymphoid cells in bovine blood in relation to the aetiology of leukosis)
Veterinariya (Moscow), 1978, 5, 37 - 40.

15 - BIRBIN (S.S.) :

(Chromosome abnormalities in the lymphoid cells of cattle with leucosis)
Veterinariya (Moscow), 1980, 7, 23 - 25.

16 - BORREL (A) :

Le problème du Cancer
Bull. Inst. Pasteur, 1903, 5, 497 - 512.

17 - BOVERI (Theodor) :

Zurfrage der Entstehung maligner Tumoren
Iena, Gustav Fisher, 1914, 64 p.

18 - BRUERE (A.N.),CHAPMAN (H.M.) :

Autosomal translocation in two exotic breeds of cattle in New - Zealand
Vet. Rec., 1973, 92, 615 - 620

19 - BURBA (L.G.), DUN (E.A.), GOLOVCHENKO (A.P.) :

(The chromosomal apparatus and morphology of lymphocytes from leucotic cows)
Vestn. Skh. Nauki (Mosc.), 1975, 1, 54 - 57.

20 - BURBA (L.G.) , DUN (E.A.), SIMONYAN (G.A.) :

(Karyotype changes in bone marrow cells of calves from leukotic cows)
Veterinariya (Moscow), 1978, 3, 43 - 46

21 - BURNY (A), BEX (F), CHANTRENNE (H), CLEUTER (Y) , DEKEGEL (D), GHYSDAEL (J), KETTAMN (R), LEUNEN (J), MAMMERICKX (H), PORTETELLE (D) :

Bovine leukemia virus involvement in Enzootic Bovine Leukosis
Adv. Cancer Res., 1977.

22 - CADOTTE (M) :

L'apport de la cytogénétique à l'étude des hémopathies
Un. méd. Can., 1979, 108, 511 - 514.

23 - CALAFAT (J) , RESSANG (A.A.) :

Study on the morphology of bovine leukemia virus and localization of the viral antigens
Vet. Microbiology, 1976, 1 , 193 - 194.

24 - CASPERSSON (T), GAHRTON (G), LINDSTEN (J), ZECH (L) :

Identification of the Philadelphia chromosome as a number 22 by quinacrine mustard fluorescence analysis.
Exp. Cell. Res., 1970, 63, 238 - 240.

25 - CASPERSSON (T), TARBER (S), FOLEY (C.E.), KUDYNOWSKI (J), MODEST (E.J.), SIMONSSON (E), WAGH (U), ZECH (L) :

Chemical differentiation along metaphase chromosomes
Exp. Cell. Res., 1968, 49, 219 - 222

26 - CASPERSSON (T), ZECH (L), JOHANSSON (C), MODEST (E.J.) :

Identification of human chromosomes by DNA-binding fluorescent agents
Chromosoma, 1970, 30, 215 - 227.

27 - CHANG (T.D.), SIEDLER (J.L.), STOCKERT (E), OLD (L.J.) :

Trisomy of chromosome 15 in X - ray induced mouse leukemia
Proc. Amer. Ass. Cancer Res., 1977, 18, 225

28 - CHERMANN (J.C.) :

Les relations virus et cancer
Encycl. Méd. Chir. Paris, Maladies infectieuses, 3, 1977, 8040, C10.

29 - CONGDON (C.C.), LORENZ (E) :

Leukemia in Guinea - pigs
Amer. J. Path, 1954, 30, 337 - 359

30 - CRESPEAU (F) :

Epidemiologie de la leucose Bovine
Rec. Méd. Vét. , 1975, 151, 139 - 144

31 - CRIPPA (L), KLEIN (D), LINDER (A) :

Etude cytogénétique et statistique d'un groupe de patients traités à la Butazolidine (Phénylbutazone)
J. Génét. hum., 1976, 24, 1 - 13.

32 - CROCE (C.M.), KOPROWSKI (H) :

Somatic cells hybrids between mouse Peritoneal Macrophages and S.V. 40 - Transformed human cells - 1 - Positive control of the transformed phenotype by the human chromosome 7 carrying the S V 40 genome.
J. Exp. Med. , 1974, 140, 1221 - 1229.

33 - DARRE (R), BERLAND (H.M.), QUEINNEC (G) :

Une nouvelle translocation robertsonienne chez les bovins
Ann. Génét. Sél. anim. , 1974, 6, 297 - 303

34 - DARRE (R), QUEINNEC (G), BERLAND (H.M) :

La translocation 1/29 des bovins. Etude générale et importance du phénomène dans le Sud-Ouest
Rev. Méd. Vét., 1972, 123, 477 - 494.

35 - DARRE (R), QUEINNEC (G), GUELFI (J.F.), FLORIO (R), COLOMBIES (P), BERLAND (H.M.) :

Constance d'un chromosome particulier dans un cas de leucémie chez le chien.
Annls Rech. Vét. , 1970, 1, 93.

36 - DELEON (I.), HUYNH (T.), LACOUR (F.) :

Etude caryologique d'un dysembryone rénal (DNV) et de cellules normales de poulet
Bull. Cancer, 1973, 60, 235 - 239

37 - DELEON (R.I.), LACOUR (F.) :

Estudios citogeneticos en pollos con leucemia Mieloid
Acta Medica (Mexico), 1966, 2, 83 - 91.

38 - DIGLIO (C.A.), FERRER (J.F.) :

Induction of syncitia by the bovine C - type leukemia virus.
Cancer Res., 1976, 36, 1056 - 1067.

39 - DOFUKU (R), BIEDLER (J.L.), STOCKERT (E), OLD (L.J.) :

Trisomy of chromosome 15 in spontaneous leukemia of AKR mice
Proc. nat. Acad. Sci., 1975, 72, 1515 - 1517.

40 - DUN (E.A.), GOLOVCHENKO (A.P.), LEBEDENKO (L.A.) :

(Chromosomes changes in lymph cells of leucotic cattle)
Sb. Nauchn. Tr. Mosk. Vet. Akad. , 1974, 73, 24 - 37.

41 - DURAN - TROISE (G.), de LUSTIG (E.S.) :

Cytogenetic study of a canine neuroblastoma
Caryologia, 1974, 27, 1 - 6.

42 - DUTCHER (R.M.), LARKIN (E.P.), TUMILOWICZ (J.J.), MARSHAK (R.R.), SZEKELY (I.E.) :

Recent studies on Bovine leukemia : Comparative leukemia Research
Proceed. Int. Werner - Green Symp, Stockholm, 1965 ; Oxford, New - York : Pergasson Press, 1966.

43 - DUTRILLAUX (B) :

Sur la nature et l'origine des chromosomes humains
Paris : L'expansion scientifique - 1975 - 102 p.

44 - ELLERMAN (V), BAN (G) :

Experimentelle leukämie bei Hühnern
Centr. Bakteriol. Abt, I, Orig, 1908, 46, 595 - 609.

45 - ENGEL (E) :

Les facteurs chromosomiques de la leucémogénèse
Schweiz. méd. Wschr, 1977, 107, n° 41, 1426 - 1436

46 - ENGEL (E), McKEE (L.C.), BUNTING (K.W.) :

Chromosomes 17 - 18 in leukaemias
Lancet, 1967, II, 42 - 43.

47 - ERNST (L.K.), LEBEDEV (M.M.), KLABUKOV (P.G.), KARLIKOV (D.V.), VILL (T.M.), GRINBERG (R.O.) :

Influence des facteurs héréditaires sur la résistance des bovins aux leucoses.
Bull. Off. int. Epiz. , 1976, 85, 299 - 309.

48 - FERRER (J), THURMOND (M C) :

4ème Symposium international sur la Leucose Bovine
Bologne, 1980.

49 - FINAZ (C), de GROUCHY (J) :

Le caryotype humain après le traitement par l'alphachymotrypsine
Ann. Génét. , 1971, 14, 309 - 311

50 - FROJET (J.H.), FONTAINE (M), NAIN (M.C.), MICHAILLARD (P.) :

Anomalie chromosomique de type fusion centrique chez un chien leucémique.
Rev. Méd. vét., 1972, 123, 583.

51 - GOH (K.O.), SMITH (R.A.), PROPER (J.S.) :

Chromosomal aberrations in leukemic cats
Cornell Vet., 1981, 71 , 43 - 46.

52 - GOLOMB (H.M.), ROWLEY (J), VARDIMAN (J.), BARON (J), LOCKER (G), KRASNOW (S) :

Partial deletion of long arm of chromosome 17 - A specific abnormality in acute promyelocytic leukemia ?.
Arch. int. Med., 1976, 136, 825 - 828

53 - GORBATOV (V.A.), DUN (E.A.), GULYUKIN (M I) :

(Radioautographic and cytogenetic study of blood cells and bon marrow cells from the offspring of leukotic cows)
Byull. Uses. Inst. EKSP. Vet., 1979, 36, 47 - 50.

54 - GROSS (L) :

" Spontaneous " leukemia developing in C 3 H mice following inoculation, in infancy, with AK - leukemic Extracts, or AK-Embryons.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. , 1951, 76, 27 - 32.

55 - GROSS (L) :

Pathogenic properties and " vertical " transmission of the Mouse Leukemia agent.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med, 1951, 78, 342 - 348..

56 - GROSS (L) :

Viral etiology of cancer and leukemia : a look into the past, present and future.
Cancer Res., 1978, 38, 485 - 493.

57 - DE GROUCHY (Jean) :

De la naissance des espèces aux aberrations de la vie
Paris : Robert Laffont, 1978, 211 p.

58 - de GROUCHY (J), de NAVA (C.), CANTU (J.M.), BILSKI - PASQUIER (G), BOUSSER (J) :

Models for clonal evolutions : a study of chronic myelogenous leukemia
Amer. J. hum. Genet., 1966, 18, 485 - 503

59 - de GROUCHY (J), de NAVA (C.), SITTOUN (R), BOUSSER (J) :

Analyses chromcsomiques dans l'anémie sidéroblastique idiopathique acquise
Now. Rev. Fr. thématol., 1966, 6, 367 - 388.

60 - de GROUCHY (J), ROUBIN (M), PASSAGE (A) :

Microtechnique pour l'étude des chromosomes humains à partir d'une culture de leucocytes sanguins.
Ann. Génét.(Paris),1964, 7, 45.

61 - de GROUCHY (J), TURLEAU (C) :

Clonal evolution in the myeloid leukemias. Dans : Chromosomes and Cancer.
New-York : J. German WILEY, 1974, 287 - 311.

62 - GUERIN (Pierre) :

Les virus oncogènes animaux
Lyon : AAEPL, 156 p - Thèse : Méd. vét. : Lyon, 1979, nº 26.

63 - GUSTAVSSON (I) :

Chromosomes abnormality in cattle
Nature (London), 1966, 211 - 865 - 866.

64 - GUSTAVSSON (I) :

Early DNA replication patterns of the normal sex chromosomes and a presumptive X - autosome translocation in cattle
Nature (London), 1971, 229, 339 - 341.

65 - GUSTAVSSON (I) :

Appearance and persistance of the 1/29 translocation in cattle
Colloque INSERM : les accidents de la reproduction , 1973, 147.

66 - GUSTAVSSON (I) ; FRACCARD (H), TIEPOLD (L), LINSTEN (J) :

Presumtive X - autosome translocation in a cow. Preferential inactivation of the normal X chromosome.
Nature (London), 1968, 218, 183 - 184.

67 - GUSTAVSSON (I), ROCKBORN (G) :

Chromosome abnormality in 3 cases of lymphatic leukaemia in cattle.
Nature (London), 1964, 203, 990 - 997.

68 - HALNAN (C.R.E.) :

Autosomal deletion and infertility in cattle
Vet. Rec., 1972, 91, 572 .

69 - HAMPAR (B), ELLISON (S.A.) :

Chromosomal aberrations induced by an animal virus
Nature (London), 1961, 192, 145 - 149.

70 - HANSEN (K.M) :

Bovine tandem fusion and infertility
Hereditas, 1969, 63, 453 - 454.

71 - HARE (W.C.D.), Mc FEELY (R.A.) :

Chromosomal abnormalities in lymphatic leukaemia in cattle.
Nature (London), 1966, 209 , 108.

72 - HARE (W.C.D.), Mc FEELY (R.A.) :

The present status of chromosome studies in Bovine leukosis (leukemia) dans Leukemia in Animals and Man - Copenhagen : H.J. Bendixen, 1968, 231 - 233.

73 - HARE (W.C.D.), Mc FEELY (R.A.), ABT (D.A.), FEIERMAN (J.R.) :

Chromosomal studies in bovine lymphosarcoma
J.nat. Cancer Inst., 1964, 33, 105 - 118

74 - HARE (W.C.D.) , WILKINSON (J.S.), Mc FEELY (R.A.) :

Bone chondroplasia and a chromosome abnormality in the same dog.
Am. J. Vet. Res., 1967, 28, 583.

75 - HARE (W.C.D.), YANG (T.J.), Mc FEELY (R.A.) :

A survy of chromosome findings in 47 cases of Bovine Lymphosarcoma (Leukemia)
J.nat. Cancer Inst., 1967, 38, 383.

76 - HERZOG (A), HOHN (H) :

Autosomal trisomie bei einem Kalt mit Brachynathia inferior und Ascites Congenitus
Dt. tierärztl. Wschr., 1968, 75, 604 - 605

77 - HERZOG (A), HOHN (H) :

Autosomal trisomie bei der letalen Brachygnathia das Rinder
Cytogenetics, 1971, 10, 347 - 355.

78 - HSU (T.C.) , BENIRSCHKE (K) :

An atlas of mammalian chromosomes
Berlin, New-York : Springer Verlag , 1970.

79 - HUEBNER (R.J.), TODARO (G.J.) :

Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of Cancer.
Proc. nat. Acad. Sci (U S A), 1969, 64, 1087.

80 - HUPPERT (J.) :

Intégration des virus dans le génome cellulaire
Rev. Méd. Vét., 1976, 126, 1439 - 1441.

81 - JARVIS (J.E.), BALL (G.), RICKINSON (A.B.), EPSTEIN (M.A.) :

Cytogenetic studies on human lymphoblastoid cell lines from Burkitt's lymphomas and other sources
Int. J. Cancer , 1974, 14, 716 - 721

82 - KANEKO (Y), SAKURAI (M) :

15/17 translocation in Acute Promyelocytic leukemia.
Lancet, 1977, 1, 961.

83 - KATO (R) :

The chromosomes of forty-two primary Rous sarcomas of the Chinese Hamster.
Hereditas, 1968, 59, 63 - 119.

84 - KATO (R) :

Chromosomal studies on carcinogenesis in the chinese Hamster.
Lund, 1968, Berlingska Boktryckeriet.

85 - KETTMAN(R), MEUNIER - ROTIVAL (M), CORTADAS (J), CUNY (G.), GHYSDAEL (J), MAMMERICKX (M), BURNY (A), BERNARDI (G) :

Integration of Bovine Leukemia Virus DNA in the bovine genome.
Proc. nat. Acad. Sci.(U S A), 1979, 76, 4822 - 4826.

86 - KETTMAN (R), PORTETELLE (D), MAMMERICKX (M), CLEUTER (Y), DEKEGEL (D), GALOUX (M), GHYSDAEL (J), BURNY (A), CHANTRENNE (H) :

Bovine Leukemia Virus : an exogenous RNA oncogenic virus.
Proc. nat. Acad. Sci. (U S A), 1976, 73 , 1014 - 1018.

87 - KIM (S.N.), YOON (J.W.), OLMSTEAD (J), KENYON (A.J.) :

Chromosome studies of lymphoblastic leukemia of domestic fowl (JM - V)
Fed. Proc., 1972, 31, 620.

88 - KLEIN (G), OHNO (S), ROSENBERG (N), WIENER (F), SPIRA (J), BALTIMORE (D) :

Cytogenetic studies on Abelson virus induced mouse leukemias
Int. J. Cancer, 1980, 25, 805 - 811.

89 - KNUDSEN (O) :

Sticky chromosomes as a cause of testicular hypoplasia in bulls.
Acta Vet. Scand., 1961, 2, 1 - 14.

90 - KONDO (K), SASAKI (M) :

Cytogenetics studies in four cases of Acute Promyelocytic Leukemia (A P L)
Cancer Genet. Cytogenet. , 1979, 1, 131 - 138.

91 - LAMY (M) :

Génétique médicale (2ème édition)
Paris : Masson, 1975.

92 - LAYO IDOWU (A) :

The chromosomes of an extragenitally located transmissible venereal tumor in a dog
J. small. Anim. Pract., 1975, 16, 393 - 398.

93 - LAZAR (P), SANTAMARIA (J), DUCIMETIERE (P) :

La leucose Bovine en France
Europ. J. Cancer, 1967, 3, 3 - 7.

94 - LEISERING (A.G.T.) :

Bericht Uber die Anatomie von 1 april 1958 bis 3 un 1 april 1859
Ber. Veterin. Wes. Kgr. Sachsen, 1858, II.

95 - LEJEUNE (J), BERGER (R), HAINES (M), LAFOURCADE (J), VIALATTE (J), SATGE (P), TURPIN (R) :

Constitution d'un clone à 54 chromosomes au cours d'une leucoblastose congénitale chez une enfant mongolienne
C.R. hebd. Séances Acad. Sci. Paris, 1963, 256, 1195 - 1197.

96 - LEJEUNE (J), GAUTHIER (M), TURPIN (R) :

Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens
C.R. hebd. Séances Acad. Sci. Paris, 1959, 248, 1721.

97 - LEMESH (U.M.), BUDEVICH (I.I), YAKUBOV (V.N.), DROGUN (A.G.) :

(Chromosomal abnormalities in bovine leucosis)
Vestn. Akad. Nauk BSSR, Seriya Selskagaspadarchykh Navuk, 1976, 3, 122 - 123.

98 - LEMESH (V M), DROGUN (A.G.), YAKUBOV (V.N.), BUDEVICH (I.I.) :

(Haematological values and chromosomal abnormalities in various forms of bovine leukosis)
Beloruss. Nauchn. Inst. Eksper. Vet. , 1976, 14, 154 - 158.

99 - LEPINE (P) :

Cancer et virus
Arch. Inst. P st. Hellénique, 1967, 13, 21 - 46

100 - LEVAN (A) :

Preliminary chromosome data on Rous sarcoma in rats
Scandinavian Symp. Carcinogenesis, Oslo, 1961.

101 - LEVY (J.P.) :

Immunologie des leucémies - dans leucémies, données fondamentales
Rev. Pratn., 1973, 23, 45 - 52.

102 - LILLY (F), PINCUS (T) :

Genetic control of murine viral leukemogenesis
Adv. Cancer. Res., 1973, 17, 231.

103 - LIVINGSTON (D.M.), TODARO (G.J.) :

Endogenous type C virus from a cat cell clone with properties distinct from previously described feline type C virus.
Virology, 1973, 53, 142.

104 - LUNGEANU (A), PAUNESCU (G.H.), BEGNESCU (R), MOLDOVAN (G), AVRAM (R), GRADINARU (D) :

Aspecte citogenetice ale leucozei bovine.
Lucr. I.C.V.B. " Pasteur ", 1977, 13, 179 - 187.

105 - LUNGEANU (A), PAUNESCU (G.H.), BEGNESCU (R), MOLDOVAN (G), AVRAM (N), GRADINARU (D) :

Biological significance of the cytogenetic aberrations in bovine leukosis.
Arch. Vét., 1978, 13, 71 - 88.

106 - MAKINO (S) :

The chromosomes cytology of the ascites tumors of rats, with special reference to the concept of the stemline cell.
Int. Rev. Cytol., 1957, 6, 26 - 84.

107 - MANOLOV (G), MANOLOVA (Y) :

Marker band in one chromosome 14 from Burkitt lymphomas
Nature (London), 1972, 237, 33 - 34.

108 - MANOLOVA (Y), MANOLOV (G), KIELER (J), LEVAN (A), KLEIN (G) :

Genesis of the 14 q + marker in Burkitt's lymphoma
Hereditas, 1979, 90, 5 - 10.

109 - MARK (J) :

Chromosomal analysis of ninety-one primary Rous sarcomas in the mouse
Hereditas, 1967, 57, 23 - 82.

110 - MARK (J) :

Karyotype patterns in human meningiomas : A comparison between studies with G - and Q - banding techniques.
Hereditas, 1973, 75, 213 - 220.

111 - MASUDA (H), HANABUSA (T), WAIDE (Y) :

Chromosome studies in two cases of bovine lymphosarcoma
Jpn. J. Zootech. Sci., 1978, 49, 802 - 807.

112 - Mc ALLISTER (R.M.), FILBERT (J.E.), NICOLSON (M.O.), RONGEY (R.W.), GARDNER (M.B.), GILDEN (R.V.), HUEBNER (R.J.) :

Transformation and production infection of human osteosarcoma cells by a Feline Sarcoma Virus.
Nature new Biol. (G B), 1971, 230, nº 17, 279 - 282.

113 - Mc DOUGALL (J.K.), DUNN (A.R.), GALLIMORE (P.H.) :

Recent studies on the characteristics of adenovirus - infected and transformed cells.
Cold Spring Harbor Symposium - Quant. Biol, 1974, 34, 591 - 600.

114 - MELANDER (Y) :

The mitotic chromosomes of some caviccrn mammals (Bos taurus L., Bison bonasus L., and Ovis aries L.).
Hereditas, 1959, 45, 649 - 664.

115 - MILES (C.P.), MOLDAVANNU (G), MILLER (D.G.), MOORE (A.) :

Chromosomes analysis of canine lymphosarcoma : two cases involving probable centric fusion.
Am. J. Vet. Res. , 1970, 31, 783.

116 - MILLER (L.D.), MILLER (J.M.), OLSON (C.) :

Inoculation of calves with particles resembling C - type virus from cultures of bovine lymphosarcoma
J. nat. Cancer Inst., 1972, 48, 423 - 428.

117 - MILIER (J.M.), MILLER (L.D.), OLSON (C), GUILLETTE (K.G.) :

Virus like particles in phytohemagglutinine stimulated lymphocyte cultures with reference to bovine lymphosarcoma
J. nat. Cancer Inst., 1969, 43, 1297 - 1305.

118 - MILLER (J.M.), OLSON (C) :

Precipitating antibody to an internal antigen of the C - type virus associated with bovine lymphosarcoma.
J. nat. Cancer Inst., 1972, 49, 1459 - 1462.

119 - MITELMAN (F), ANDERSSON - ANVRET (M), BRANDT (L), CATOVSKY (D), KLEIN (G), MANOLOV (G), MANOLOVA (Y), MARK - VENDEL (E), NILSSON (P.G.) :

Reciprocal 8 ; 14 translocation in EBV - negative B - cell acute lymphocytic leukemia with Burkitt- type cells.
Int. J. Cancer, 1979, 24, 27 - 33.

120 - MITELMAN (F), LEVAN (G) :

Clusterings of aberrations to specific chromosomes in human neoplasms. II = A survey of 287 neoplasms.
Hereditas, 1976, 82, 167 - 174.

121 - MITELMAN (F), LEVAN (G) :

Do only a few chromosomes carry genes of prime importance for malignant transformation ?
Lancet, 1976, II, 264.

122 - MITELMAN (F), MARK (J) :

Chromosomal analysis of primary and metastatic Rous sarcomas in the rat
Hereditas, 1970, 65, 227 - 236.

123 - de MONBREUN (W.A.), GOODSPATURE (E.W.) :

An experimental investigation concerning the nature of contagious lymphosarcoma of dogs
Am. J. Cancer, 1934, 21, 295 - 321.

124 - MOORHEAD (P.S.), SAKSELA (E) :

Non - random chromosomes aberrations in SV 40 transformed human cells.
J. Cell. Comp. Physiol., 1963, 62, 57 - 83.

125 - MORI (M), SASKI (M), ISHIKAWA (T) , KAWATA (K) :

Autosomal trisomy in a malformed new born calf.
Proc. Jpn. Acad, 1969, 45, 955 - 959.

126 - MURRAY (M), JAMES (Z.H.), MARTIN (W.B.) :

A study of the cytology and the caryotype of the canine transmissible venereal tumour.
Res. Vet. Sci, 1969, 10, 565.

127 - MUTUZKIN (L.I.) :

(Comparative cytogénetic studies of cattle with spontaneous leucosis and tissue cultures infected with oncogenic viruses (bovine adenovirus),).
Dokl. Vsz. Akad. Sel'- khoz. Ven. Nauk, 1975, 5, n°37,39 - 47.

128 - MUTUZKIN (L.I.), SHISHKOV (V.P.), ITKIN (B.Z.) :

(Comparative cytogenetic characteristics of bone marrow cells and thoracic duct lymphocytes in normal and leukotic cattle)
Sb. Nauchn. Tr. Mosk. Vet. Akad., 1977, 90, 64 - 66.

129 - NASTAC (E), HOZOC (M), URSU (E), DUMITRESCU (S.M.), STOYAN (M), MANCLESCU (N) :

Malignant cell line (" CT 384 ") obtained from bovine leukemic tisone.
Rev. Roum. Virol., 1974, 25, n° 2, 165.

130 - de NAVA (C) :

Les anomalies chromosomiques au cours des hémopathies malignes et non malignes - Etude de 171 cas.
Paris : l'expansion, 1969 - Thèse : Univ. Orsay Sci. nat., 1968.

131 - NICHOLS (W.W.) :

Relationships of viruses chromosomes and carcinogenesis
Hereditas, 1963, 50, 53 - 80.

132 - NOWELL (P.C.) :

Marrow chromosomes studies in preleukemia - Further correlation with clinical cause.
Cancer, 1971, 28, 513, 518.

133 - NOWELL (P.C.), HUNGERFORD (D.A.) :

Chromosomes studies on normal and leukemic human leukocytes.
J. nat. Cancer Inst., 1960, 25, 85 - 93.

134 - OHNO (S), BABONITS (M), WIENER (F), SPIRA (J), KLEIN (G), POTTER (M) :

Non random chromosome changes involving the distal end of chromosome 15 and the Ig - gene carrying chromosomes (12 and 6) in prinstane - induced mouse plasmocytomas.
Cell, 1979, 18, 1001 - 1007.

135 - OKADA (M), MIYAZAKI (T), KUMOTA (K) :

15/17 translocation in acute promyelocytic leukemia.
Lancet, 1977, 1, 961.

136 - OSMAN (M.KH.M.) :

(Changes in chromosomes in cells from thoracic duct lymph in leukotic cattle)
Sb. Nauchn. Tr. Mosk. Vet. Akad., 1976, 85, 47 - 49.

137 - OSTROUSKAYA (L.P.) :

(Anaphase cytogenetic method for the diagnosis of bovine leucosis)
Dostizh. Vet. Nauki. Pered. Opyta - Zhivot., 1978, 4, 14 - 18.

138 - OSTROUSKAYA (L.P.), TIMYAKOV (G.G.) :

(Changes in chromosomes and genome in the lymphnodes and spleen of cattle in the subclinical stages of leukosis)
Tr. Beloruss. Nauchno. Issled. Vet. Inst., 1975, 13, 95 - 97.

139 - PARDUE (M.L.), GALL (J.G.) :

Chromosomal localization of mouse satellite DNA
Science, 1970, 168, 1356 - 1358.

140 - PARODI (A.L.) :

Les Ribovirus oncogènes
Rev. Port. Scienc. Vét., 1974, 69, 5 - 21.

141 - PARODI (A.L.) :

Les leucoses félines et bovines, modèles de leucémie viro-induite.
Rev. Méd. Vét., 1976, 126, 1445 - 1450.

142 - PARODI (A.L.) :

Etiologie et épidémiologie de la Leucose Bovine Enzootique
Bull. Off. int. Epiz., 1977, 87, 975 - 1012.

143 - PARODI (A.L.), COTARD (M.P.) :

Rappel des aspects cliniques et anatomopathologiques de la Leucose Bovine
Rec. Méd. Vét., 1975, 151, n° 3, 131 - 137.

144 - PEDERSEN (B) :

The karyotype évolution in chronic granulocytic leukaemia :
I - The chromosomes gained and lost during initiation of the evolution.
II - The chromosome and karyotype pattern of advanced evolution.
Eur. J. Cancer, 1973, 9, 503.

145 - POLLOCK (D) :

A chromosome abnormality in Friesan cattle in Great Britain
Vet. Rec, 1972, 3, 309 - 310.

146 - PONTEN (J) :

Chromosome analysis of three virus associated chicken tumors :
Rous sarcoma, erythroleukemia and RPL 12 tumor.
J. nat. Cancer Inst,1963, 30, 897 - 921.

147 - POPESCU (C.P.) :

Un cas possible d'inversion péricentrique chez les bovins
Ann. Génét, 1972, 15, 197 - 199.

148 - POPESCU (C.P.) :

Observations sur une fusion centrique chez les Bovins (Bos taurus L.)
1er Congrès Mondial de Génétique appliquée à l'élevage, Madrid, 7 - 11 novembre 1974, III, 165 - 168.

149 - POPESCU (C.P.) :

Etude cytogenetique des reproducteurs, dans :
Rapport Union Nat. Coop. Elev. I. A., 1974, 80.

150 - POPESCU (C.P.) :

L'étude du caryotype bovin (Bos taurus L.) par les méthodes de bandes.
Anr. Biol. anim. Bioch. Biophys., 1975, 15, 751 - 756.

151 - PREDESCU (E), ATHANASIU (P), NASTAC (E), HOZOC (M) :

Study of chromosomal alterations in bovine leukosis
Rev. Roum. Méd. Virol., 1977, 28, n° 2, 133 - 136.

152 - QUARANTA (Daniel) :

Signification et rôle des anomalies chromosomiques observées dans les hémopathies
Thèse : Méd. : Nice : 1977, n° 23.

153 - REEVES (B.R.) :

Dans : Methods in cancer Research
Busch. H. ed., 1975, 11, 1 - 41

154 - RIECK (G.W.), HOHN (H), HERZOG (A) :

Hypogonadismus, intermitterender Kryptorchismus und segmentäre Aplasie der Ductus Wolffü bei einem männlichen Rind mit XXY - XX - XY Gonosmen Mosaïk.
Dt. Tierärztl. Wschr., 1969, 76, 133 - 138.

155 - RIECK (G.W.), HOHN (H), HERZOG (A) :

X trisomie bein Rind mit Anzeichen familiärer Disposition für Meïoses törungen
Cytogenetics, 1970, 9, 401 - 409.

156 - RIPPS (R.S.), HURVITZ (A.I.) :

Myeloproliferative disorder in two cats : cytogenetic studies
Am. J. Vet. Res., 1971, 32, 93 - 97.

157 - ROBERTSON (W.R.B.) :

Chromosomes studies . I : Taxonomic relationships shown in the chromosomes of tettigidae and acridida V : Shaped chromosomes and their significance in acrididae, locustidae and gryllidae : chromosomes and variation
J. morp., 1916, 27, 179 - 331.

158 - ROUS (P) :

Transmission of a Malignant New Growth by Means of a cell - free filtrate.
J. Am. Med. Assoc. , 1911, 56, 198.

159 - ROWLEY (J.D.) :

A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining
Nature (London), 1973, 243, 290 - 293.

160 - ROWLEY (J.D.) :

Non - random chromosomal abnormalities in hematologic disorders of man.
Proc. nat. Acad. Sci (U S A), 1975

161 - ROWLEY (J.D.) :

The role of cytogenetics in haematology
Editorial Review Blood, 1976, 47, 1 - 7.

162 - ROWLEY (J.D.) :

The cytogenetics of Acute Leukemia
Clin. Hem., 1978, 7, 385 - 406.

163 - ROWLEY (J.D.) , GOLOMB (H.M.), DOUGHERTY (C) :

15/17 translocation, a consistent chromosomal change in Acute Promyelocytic Leukemia
Lancet, 1977, 1, 549 - 550.

164 - SAGRAFENA (Denis) :

Contribution à l'étude de la Leucose Bovine
Lyon : C.R.D.P. - 102 p - Thèse : Méd. vét. : Lyon : 1980 : n° 56.

165 - SASAKI (M.S.), MAKINO (S) :

A revised study of the chromosomes in somatic cells in vitro of Bos taurus and Equus caballus
Hereditas, 1962, 48, 536 - 538.

166 - SCOTT (C.D.) :

Cytogenetic investigation on normal, intersexual, leukemic and achondroplastic animals of Bos taurus
Diss. Abstr., 1969, 29B, 2308.

167 - SCOTT (C.D.), GREGORY (P.W.) :

An XXY trisomic in an intersex of Bos taurus
Genetics, 1965, 52, 473 - 474.

168 - SHADMANOV, BERNIKOVA, VILL (T.M.) :

(Relationships between blood group polymorphism in cattle and the occurence of leucosis)
Dok. Vsz. Akad. Sel' sko. Ven. Nauk , 1976, 1, 31 - 33.

169 - SHERES (J.M.J.C.), HUSTINX (T.W.J.), de VAAN (C.A.M.), RUTTEN (K.J.) :

15/17 translocation in acute promyelocytic leukemia
Hum. Genet., 1978, 43, 115 - 117.

170 - SHORT (R.V.), SMITH (J.), MANN (T), EVANS (E.P.), HALLETT (J), FRYER (A), HAMERTON (J.L.) :

Cytogenetic and endocrine studies of a freemartin heifer and its bull co-twin
Cytogenetics, 1969, 8, 369 - 388.

171 - SPIEGELMAN (S), WATSON (K.F.), KACIAN (D.L.) :

Synthesis of DNA complements of natural RNA s : a general approach.
Proc. nat. Acad. Sci (U S A), 1971, 68, 2843 - 2845

172 - SPIRA (J), WIENER (F), OHNO (S), KLEIN (G) :

Is trisomy cause or consequence of murine T - cell leukemia development ? Studies on Robertsonian translocation mice.
Proc. nat. Acad. Sci (U S A), 1979, 76, 6619 - 6621.

173 - STANIK (J), IZARIKOVA (A) :

Cytogenetics analysis of lymphoid blood cells in the course of bovine leucosis.
Ved. Med. Praha, 1979, 24, 641 - 647.

174 - STICH (H.F.), VAN OOSIER (C.L.), TRENTIN (J.J.) :

Chromosome aberrations by humane Adenovirus type 12
Exp. Cell. Res, 1964, 34, 400 - 403.

175 - STUBBS (E.L.), FURTH (J) :

Experimental studies on venereal sarcoma of dog
Amer. J. Path., 1934, 10, 275 - 286.

176 - TAKAMAYA (S), MAKINO (S) :

Cytological studies of tumors : XXXV : A study of chromosomes in venereal tumors of dog.
Z. Krebsforsch, 1961, 64, 253 - 261.

177 - TEERENHOVI (L), BORGSTOM (G.H.), MITELMAN (F), BRANDT (L), VUOPIO (P), TIMONEN (T), ALMQUIST (A), de LA CHAPELLE (A) :

Uneven geographical distribution of 15/17 translocation in acute promyelocytic leukaemia.
Lancet, 1978, 2, 797.

178 - TEMIN (H.M.), MIZUTANI (S) :

RNA - dependent - DNA polymerase in vi ions of Rous sarcoma virus
Nature (London), 1970, 226, 1211 - 1213.

179 - TIJO (J.H.), LEVAN (A) :

The chromosomes of man
Hereditas, 1956, 42, 1 - 6.

180 - TODARO (G.J.) HUEBNER (R.J.) :

The Viral oncogene hypothesis : new evidence
Proc. nat. Acad. Sci (U S A), 1972, 69, 1009 - 1015.

181 - TURLEAU (C) :

The caryotype
Gaz. méd. Fr. , 1975, 82, 3811.

182 - U.N.S.C.E.A.R. :

Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation.
General assembly official records, twenty fourth session - Sup. 13 (A / 76/3) - United Nations - New - York, 1969.

183 - VAN DEN BERGHE (H), LOUWAGIE (A), ORSHOVEN (A.B.V.), DAVID (G), VERWILGHEN (R), MICHAUX (J.L.), SOKAL (G) :

Chromosome abnormalities in acute promyelocytic leukemia (A.P.L.)
Cancer, 1979, 43, 558 - 562.

184 - VON HANSEMANN (D) :

Uber asymmetrische Zellteilung in Epithelkrebsen und deren biologische Bedeutung.
Virchows Arch. path. Anat., 1890, 119, 299 - 326.

185 - WATANABE (F), AZUMA (M) :

Cytological confirmation of fluid infection in the venereal tumor of dogs.
Gann, 1956, 47, 23 - 35.

186 - WEBER (W.T.), NOWELL (P.C.), HARE (W.C.D.) :

Chromosome studies of a Transplanted and a primary canine venereal sarcoma.
J. nat. Cancer Inst., 1965, 35, 537 - 547.

187 - WEINHOLD (E) :

(Chromosomal investigations in bovine leucosis)
Gies. Beit. Erbp. Sond., 1970, 1, 119 - 126.

188 - WEINHOLD (E) :

(Chromosomal abnormalities in cell cultures from cattle with regard to bovine leukosis)
Europaïsches Kolloquium über Zytogenetic (Chromosomempathologie) in Veterinärmedizin Tiezucht und Säugetierkunde - Giessen - Ger. Fed. Rep. Dt. Veterinärmedizinische, 1976, 122 - 138.

189 - WEINHOLD (E), MULLER (A) :

Untersuchungen über chromosomenanomalien bei der Rinderleukose.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. , 1971, 84, 146 - 149.

190 - WEPSIC (H.T.), ZBAR (B), WHANG - PENG (J), BORSOS (T), RAPP (H.J.) :

Guinea - pig leukemia L2C : Characterization of chromosomes and attempts to demonstrate antigenicyty.
J. nat. Cancer Inst., 1970, 45, 99 - 105.

191 - WESTPHAL (H), DULBECCO (R) :

Viral DNA in polyoma - and SV 40 - transformed cells lines
Proc. nat. Acad. Sci. (U S A), 1968, 59, 1158 - 1165.

192 - WHANG - PENG (J) :

Cytogenetics studies in L2C leukemia
Fed. Proc., 1977, 36, 2255 - 2259.

193 - WHANG - PENG (J), SONSTEGARD (R.A.), DAWE (C) :

Chromosomal characteristics of malignant lymphoma in northern pike (Esox lucius) from the United - States.
Cancer Res. , 1976, 36, 3554 - 3560.

194 - WIENER (F), OHNO (S), SPIRA (J), HARAN - GHERA (N), KLEIN (G) :

Chromosome changes (trisomy 15 and 17) associated with tumor progression in leukemias induced by radiation leukemia virus
J. nat. Cancer. Inst. , 1978, 61, 227 - 237.

195 - WIENER (F), OHNO (S), SPIRA (J), HARAN - GHERA (N), KLEIN (G) :

Cytogenetic mapping of the trisomic segment of chromosome 15 in murine T - cell leukemia
Nature (London), 1978, 275, 658 - 660.

196 - WIENER (F), SPIRA (J), OHNO (S), HARAN - GHERA (N), KLEIN (G) :

Chromosome changes (trisomy 15) in murine T - cell leukemia induced by 7, 12 dimethylbenz (a) anthracene (D M B A)
Int. J.Cancer, 1978, 22, 447 - 453.

197 - WOLFROM (Claire - Marie) :

Analyses chromosomiques dans les hémopathies malignes
Thèse : Méd. : Paris / Br. : 1977 : n° 227.

198 - WYERS (M) :

Rappel sur les oncornavirus des animaux
Rec. Méd. Vét. , 1975, 151, 153 - 164

199 - WYERS (Monique) :

Carcinogénèse virale
Cours C.E.S. Ana. Path. Animaux Laboratoire-Toulouse, 1980.

200 - ZEBROWSKI (L), MAJEWSKA (H), BATKO (A) :

Analysis of karyotypes of cattle families depending on leukaemia occurence.

Bull. Vet. Inst. Pulaw y, 1972, 16, 24 - 27.

201 - ZECH (L), HAGLUND (U), NILSSON (K), KLEIN (G) :

Characteristic chromosomal abnormalities in biopsies and lymphoid cell lines from patients with Burkitt and non - Burkitt lymphomas
Int. J. Cancer, 1976, 17, 47 - 56.

-:-